Série A, N° Orsay
N° d'ordre : 11

THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS
CENTRE D'ORSAY

POUR OBTENIR LE GRADE DE DOCTEUR ÈS SCIENCES

PAR

Marie-Thérèse de LESTRANGE

Première Thèse :

CONTRIBUTION A L'ETUDE DU VIRUS HEREDITAIRE DE LA DROSOPHILE : ACTION DE LA TEMPERATURE SUR LE CONTENU EN VIRUS DES TISSUS SOMATIQUES DE L'HOTE

Deuxième Thèse : Propositions données par la Faculté

Soutenues le 1962 **devant la Commission d'Examen**

MM. A. LWOFF Président.
Ph. L'HÉRITIER Examinateur
P. SCHAEFFER —

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41538127_0014

Série A, N° Orsay
N° d'ordre : 11

THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS
CENTRE D'ORSAY

POUR OBTENIR LE GRADE DE DOCTEUR ÈS SCIENCES

PAR

Marie-Thérèse de LESTRANGE

Première Thèse :

CONTRIBUTION A L'ETUDE DU VIRUS HEREDITAIRE DE LA DROSOPHILE : ACTION DE LA TEMPERATURE SUR LE CONTENU EN VIRUS DES TISSUS SOMATIQUES DE L'HOTE

Deuxième Thèse : Propositions données par la Faculté

R. UNIV. BIBLIOTHEEK LEIDEN

Soutenues le **devant la Commission d'Examen**

MM. A. LWOFF Président.
Ph. L'HÉRITIER Examinateur
P. SCHAEFFER —

Série A, N° Orsay
N° d'ordre : 11

THÈSES

PRÉSENTÉES

À LA FACULTÉ DES SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS
CENTRE D'ORSAY

POUR OBTENIR LE GRADE DE DOCTEUR ÈS SCIENCES

PAR

Marie-Thérèse de LESTRANGE

Première Thèse :

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE DU VIRUS HÉRÉDITAIRE DE LA DROSOPHILE : ACTION DE LA TEMPÉRATURE SUR LE CONTENU EN VIRUS DES TISSUS SOMATIQUES DE L'HÔTE

Deuxième Thèse : Propositions données par la Faculté

Soutenues le devant la Commission d'Examen

MM. A. LWOFF Président.
Ph. L'HÉRITIER Examinateur
P. SCHAEFFER —

FACULTÉ DES SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

PROFESSEURS

Doyen : M. ZAMANSKY

G. JULIA	T	Analyse supérieure et Algèbre supérieure
DE BROGLIE	T	Théories physiques
PRENANT	T	Anatomie et Histologie comparées
GRASSE	T	Evolution des êtres organisés
PREVOST	T	Chimie organique
CHAUDRON	T	Chimie appliquée
WYART	T	Minéralogie et Cristallographie
TEISSIER	T	Zoologie
MANGENOT	T	Biologie végétale (Orsay)
AUGER	T	Physique quantique et relativité
MONNIER	T	Physiologie générale
PIVETEAU	T	Paléontologie
ROCARD	T	Physique (E.N.S.)
CARTAN	T	Mathématiques (E.N.S.)
LAFFITTE	T	Chimie générale
FAVARD	T	Géométrie supérieure
COULOMB	T	Physique du globe
Mlle COUSIN	T	Biologie animale (S.P.C.N.)
CHRÉTIEN	T	Chimie minérale
DRACH	T	Zoologie
KASTLER	T	Physique (E.N.S.)
EPHRUSSI	T	Génétique
RIVIERE	T	Géologie S.P.C.N. et Sédim.
GAUTHERET	T	Biologie végétale (P.C.B.)
R. LUCAS	T	Recherches physiques
A. THOMAS	T	Biologie cellulaire
ARNULF	T	Optique appliquée
MORAND	T	Physique enseignement
SOIEILLET	T	Physique (P.C.B.)
FORTIER	T	Mécanique exp. des fluides
DANJON	T	Astronomie
PETIT	T	Biologie maritime
QUENEY	T	Météorologie et dynamique atmosphérique
GALLIEN	T	Embryologie
EICHHORN	T	Botanique
DE CUGNAC	T	Biologie végétale (S.P.C.N.)
Mlle CAUCHOIS	T	Chimie physique
THELLIER	T	Physique du globe
L'HÉRITIER	T	Biologie générale (Orsay)
GRIVET	T	Radioélectricité (Orsay)
PONCIN	T	Mécanique générale
DUBREIL	T	Arithmétique et théorie des nombres
QUELET	T	Chimie organique
CAGNIARD	T	Géophysique appliquée
CHAMPETIER	T	Chimie macromoléculaire
CUVILLIER	T	Micropaléontologie
JUNG	T	Pétrographie
TRILLAT	T	Microscopie et diffraction électronique
WIEMANN	T	Chimie organique et structurale
JACQUINOT	T	Spectroscopie et physique céleste (Orsay)
VASSY	T	Physique de l'atmosphère
DESTOUCHES	T	Théories physiques
AMIEL	T	Chimie générale
HOCART	T	Minéralogie et cristallographie
J.-P. MATHIEU	T	Physique (Optique)
COUTEAUX	T	Biologie animale (P.C.B.)
MAY	T	Zoologie (Orsay)
CHOQUET	T	Théorie des fonctions et topologie
FELDMANN	T	Biologie végétale marine
GUINIER	T	Physique du Solide (Orsay)
JOST	T	Physiologie comparée
FORTET	T	Calcul des probabilités et physique mathématique
SCHWARTZ	T	Calcul difl. et Intégral
CHOUARD	T	Physiologie végétale
MALAVARD	T	Aviation (Techn. aéron.)
BRELOT	T	Calcul diff. et Intégral
NORMANT	T	Synthèse organique générale
BENARD	T	Chimie minérale
BUVAT	T	Botanique (E.N.S.)
DUGUE	T	Statistiques mathématiques
SOULAIRAC	T	Psychophysiologie
ULRICH	T	Physiologie végétale
MARÉCHAL	T	Optique théorique et appliquée
KIRRMANN	T	Théories chimiques
CHADEFAUD	T	Botanique
Mlle LE BRETON	T	Physiologie de la nutrition
SALEM	T	Mathématiques générales
LELONG	T	Applic. de l'analyse à la géométrie
DEVILLERS	T	Anatomie et Histologie comparées
EHRESMANN	T	Topologie algébrique
FRANÇON	T	Physique (S.P.C.N.)
GLANGEAUD	T	Géographie phys. et Géologie dynamique
GODEMENT	T	Mathématiques (M.P.C.)
PISOT	T	Technique mathématique de la phys.
ROCH	T	Géologie
SCHATZMAN	T	Astrophysique
TERMIER	T	Paléontologie stratigraphique
ZAMANSKY	T	Mathématiques générales
LENNUIER	T	Physique (M.G.P.)
RIZET	T	Génétique (Orsay)
ROUTHIER	T	Géologie appliquée

Mme TONNELAT	T	Physique théorique
DIXMIER	T	Mathématiques (M.P.C.)
SOUCHAY	T	Chimie générale
AIGRAIN	T	Electrotechnique générale
BRUSSET	T	Chimie systématique
M. LÉVY	T	Physique théorique des hautes énergies (Orsay)
Mme CHAIX	T	Chimie biologique
Mme HUREL-PY	T	Biologie végétale (P.C.B.)
PIAUX	T	Chimie (M.P.C.)
BRUN	T	Mécanique théorique des fluides
LEDERER	T	Chimie biologique
Mme DUBREIL	T	Mathématiques (Agrégation)
Mme LELONG	T	Mathématiques (E.N.S.)
BELLAIR	T	Géologie (S.P.C.N.)
COTTE	T	Physique électricité
J.-E. DUBOIS	T	Chimie organique
LAMOTTE	T	Zoologie (E.N.S.)
A. MICHEL	T	Chimie minérale (Orsay)
OLMER	T	Energétique générale
ROUAULT	T	Electricité (Orsay)
GAUTHIER	T	Mécanique appliquée
BARCHEWITZ	T	Chimie physique
BROSSEL	T	Physique atomique
BUSER		Physiologie comparée
CAMUS		Physiologie végétale B.M.P.V.
CASTAING	T	Physique (Orsay)
CURIEN	T	Minéralogie et cristallographie
MOYSE	T	Physiologie végétale (Orsay)
NOIROT		Evolution des êtres organiques
PANNETIER	T	Chimie générale (Orsay)
POSSOMPES	T	Zoologie
PULLMANN	T	Chimie théorique
TEILLAC	T	Physique nucléaire et Radio-activité
TONNELAT	T	Biologie physico-chimique
VILLE	T	Econométrie
WILLEMART		Chimie (P.C.B.)
DODE	T	Chimie (Orsay)
FREYMANN	T	Recherches physiques
GUINOCHET	T	Biologie végétale S.P.C.N. (Orsay)
ROLLET	T	Chimie (P.C.B.)
Mlle JOSIEN	T	Chimie S.P.C.N.
CHEVALLEY	T	Géométrie algébrique et théorie des groupes
ARNOULT	T	Electronique (Orsay)
CHAPELLE	T	Physique (Orsay)
DELANGE	T	Mathématiques (Orsay)
DENY	T	Mathématiques générales (Orsay)
GERMAIN	T	Mécanique théorique des fluides
G. LUCAS	T	Géologie
ALLARD	T	Chimie physique
BERTHELOT	T	Physique fondamentale des hautes énergies (Orsay)
BRICART	T	Météorologie et physique de l'atmosphère
Mme ALBE-FESSARD		Psychophysiologie
FRIEDEL		Physique du Solide (Orsay)
M. JULIA		Etudes des moléculaires naturelles complexes
LENDER	T	Biologie animale (S.P.C.N.) Orsay
MAGAT		Physico-chimie des radio-éléments
Mlle QUINTIN	T	Electrochimie
MONOD	T	Chimie du métabolisme
BENOIT	T	Physiologie animale (Orsay)
DE POSSEL	T	Analyse numérique
CHARLOT	T	Chimie analytique
HAISSINSKY	T	Radiochimie
LEMÉE	T	Physiologie végétale B.M.P.V. (Orsay)
GUÉRIN	T	Chimie M.P.C. (Orsay)
CHATELET M.		Chimie P.C.B.
JEAN	T	Physique nucléaire (Orsay)
MATTLER	T	Physique S.P.C.N.
L. MICHEL		Physique théorique des hautes énergies (Orsay)
BERGERARD		Zoologie (Orsay)
BERTEIN		Electronique (Orsay)
BOUISSIERES		Chimie des radioéléments (Orsay)
Mme COUTURE		Thermodynamique et Mécanique physique
ELLENBERGER		Géologie appliquée sur le terrain
FRANC		Biologie animale (P.C.B.)
SCHNELL		Botanique tropicale (Orsay)
STOLKOWSKI		Physiologie générale
ACHER		Chimie biologique (Orsay)
BAUDOIN		Biologie animale (P.C.B.)
BEAUMONT		Biologie animale S.P.C.N.
BLAMONT		Géophysique ionosphère
BOURREAU		Botanique
D. CURIE		Physique M.G.P.
DURAND-DELGA		Géologie
FRÉON	T	Chimie organique (Orsay)
HELLER		Physiologie végétale
TORTRAT		Calcul des probabilités
CAILLEUX		Géologie S.P.C.N.
MAGNAN	T	Physique S.P.C.N.
DAUDEL	T	Mécanique ondulatoire appliquée à la Chimie théorique et à la Physique nucléaire
Mlle FOURCROY		Biologie végétale (S.P.C.N.)
Mme CHOQUET-BRUHAT	T	Mécanique analytique et Mécanique céleste
Mlle VEIL		Physiologie générale
LWOFF	T	Microbiologie
SIESTRUNCK	T	Mécanique physique et expériment.
LACOMBE	T	Métallurgie des métaux nucléaires
BROCHARD	T	Physique M.P.C. (Orsay)
CABANNES	T	Mécanique générale
LESIEUR	T	Mathématiques M.P.C. (Orsay)
MAZET	T	Mécanique générale (Orsay)
CAIRE		Géographie physique et Géologie dynamique
COMOLET		Mécanique des fluides
CORABŒUF		Physiologie animale
DELLOUE		Physique de l'exosphère
GORENFLOT		Botanique II (Orsay)
HOUILLON		Biologie animale (P.C.B.)
J. JULLIEN		Chimie M.P.C. (Orsay)
MALGRANGE		T.M.P. (Orsay)
OLIVIER		Antropologie
NOZERAN	T	Botanique II (Orsay)
BLANC-LAPIERRE		Physique E.N.S. (Orsay)

Secrétaire général : R. POULLAIN

AVANT-PROPOS.

Les recherches qui font l'objet de ce travail ont été réalisées dans le laboratoire de Génétique des Virus du C.N.R.S., sous la direction de Monsieur le Professeur Ph. L'HERITIER. Je suis heureuse de le remercier de l'attention constante qu'il a bien voulu accorder à mes expériences, de toutes les suggestions et conseils précieux qu'il m'a prodigués tout au long des années passées dans son laboratoire. Sans lui, ce travail n'aurait pu être mené à bien ; qu'il trouve ici l'expression de ma profonde reconnaissance.

Monsieur le Professeur A. LWOFF a bien voulu accepter de présider mon jury de thèse, je l'en remercie vivement.

Je remercie également Monsieur le Professeur P. SCHAEFFER pour avoir bien voulu juger ce travail.

Mes remerciements vont encore à tous les techniciens du laboratoire, dont le travail a grandement facilité ma tâche, en particulier :

Mademoiselle LENOBLE dont l'assistance m'a été très utile et qui m'a aidée à polycopier ce mémoire.

Madame BOURLES qui a partagé avec moi la partie matérielle de mes expériences. Je n'aurais jamais pu les réaliser sans son aide compétente et efficace. Je tiens à l'en remercier tout spécialement.

Je voudrais enfin remercier Madame BOISSONNET qui s'est chargée de la longue préparation des stencils et des travaux de dactylographie de cette thèse.

-----ooOOoo-----

TABLE DES MATIERES

Pages

INTRODUCTION 1

CHAPITRE I. MATERIEL ET TECHNIQUES 5

A - Drosophiles sensibles utilisées 5

B - Caractères génétiques des virus utilisés 7

C - Techniques habituelles du laboratoire 8

1. Elevage - 2. Tests de la sensibilité au CO_2 - 3. Extraction du virus, inoculation - 4. Dosage du virus - 5. Passage au germen.

D - Techniques particulières aux expériences de chauffage 11

1. Température - 2. Chauffages imaginaux - 3. Chauffages préimaginaux - 4. Périodes d'application du traitement thermique choisies selon les expériences et le type de mouches - 5. Représentation graphique des résultats expérimentaux.

CHAPITRE II. EVOLUTION DU RENDEMENT EN VIRUS MUR DE DROSOPHILES CHAUFFEES A 30° C 16

A - Chauffages intervenant une fois le "plateau" final établi 16

1. Description de trois expériences type - 2. Généralité du phénomène - 3. Différences observées dans la cinétique du phénomène, selon le type de mouches chauffées .

B - Chauffages intervenant avant l'établissement du "plateau" 32

C - Discussion 38

CHAPITRE III. EVOLUTION A 20° C DU RENDEMENT EN VIRUS MUR DE DROSOPHILES PREALABLEMENT CHAUFFEES. 44

A - Drosophiles ayant subi un traitement thermique après l'établissement du "plateau" 44

1. Description de trois expériences type - 2. Généralité du phénomène.

B - Drosophiles ayant subi un traitement thermique intervenu à un stade préimaginal de leur évolution 52

1. Retour à 20° C après un chauffage nymphal - 2. Retour à 20° C après un traitement thermique appliqué au stade ovogonie et au stade oeuf - 3. Généralité du phénomène de remontée du titre.

C - Drosophiles ayant subi au moins deux traitements thermiques séparés par un séjour à 20° C 67

D - Différences observées dans la cinétique du phénomène 69

1. Suivant l'emplacement, la durée, du traitement thermique appliqué - 2. Suivant le type de Drosophiles sensibles utilisées.

CHAPITRE IV. EXPERIENCES DITES "DE SURINFECTION" 74

A - Principe des expériences 74

B - Expériences de surinfection intervenant après un chauffage imaginal de Drosophiles dont le rendement en virus mûr a atteint le "plateau" 78

1. Drosophiles non-stabilisées - 2. Drosophiles stabilisées.

C - Expériences de surinfection intervenant chez des Drosophiles ayant subi un chauffage pendant la période nymphale 88

1. Drosophiles non-stabilisées - 2. Drosophiles stabilisées.

D - Discussion 94

CHAPITRE V. DISCUSSION DES RESULTATS EXPERIMENTAUX 100

A - Phénomènes communs aux deux types de Drosophiles sensibles .. 100

B - Différences observées selon le type de Drosophiles sensibles. 114

C - Conclusion 121

CHAPITRE VI. COMPARAISON ENTRE L'ACTION EXERCEE PAR LE CHAUFFAGE SUR LE VIRUS σ DE LA DROSOPHILE ET SUR D'AUTRES VIRUS OU PARTICULES CYTOPLASMIQUES IN VIVO 127

RESUME 138

BIBLIOGRAPHIE 142

INTRODUCTION.

Depuis sa découverte, en 1937, par Ph. L'HERITIER et G. TEISSIER, la sensibilité héréditaire au gaz carbonique de la Drosophile a fait l'objet d'études approfondies. Malgré l'existence de plusieurs mémoires consacrés aux différents aspects du phénomène et surtout des revues d'ensemble publiées par Ph. L'HERITIER (1958 et 1962), nous rappellerons ici brièvement comment se manifeste la sensibilité au CO_2 et quelques unes des données fondamentales concernant le problème.

Le gaz carbonique est pour les Drosophiles banales un narcotique à action immédiate et dont l'effet se prolonge tant que les mouches sont maintenues dans ce gaz. Replacées à l'air libre, les insectes se réveillent rapidement et retrouvent leur motilité normale.

Le comportement des Drosophiles sensibles au CO_2 soumises au même traitement, est totalement différent. On observe bien chez celles-ci la même narcose pendant leur séjour dans le CO_2, par contre, le retour à l'air libre ne provoque pas leur réveil. Elles restent paralysées et meurent quelques heures plus tard.

La nature virale de l'agent responsable de cette anomalie physiologique a pu être démontrée. On peut en effet extraire des mouches sensibles, un agent infectieux capable de se multiplier, à la suite d'une inoculation, dans des Drosophiles dépourvues de virus. Celles-ci deviennent elles-mêmes sensibles au CO_2. La courbe de multiplication présente les différentes phases caractéristiques de la multiplication virale. La particule peut subir des mutations et son comportement général permet de la considérer comme un virus.

Parmi les Drosophiles capturées dans la nature, beaucoup sont sensibles au CO_2, mais, nous avons vu que l'on peut également obtenir des individus sensibles en inoculant à des Drosophiles banales un extrait virulent obtenu à partir de mouches sensibles au CO_2. Dans ce cas les mouches deviennent sensibles après un délai qui dépend de la richesse en virus de l'inoculum (N. PLUS, 1954).

Le caractère "sensible" est transmis héréditairement selon des règles particulières. Croisés entre eux, les individus "stabilisés" (c'est-à-dire appartenant à une souche pure sensible) donnent naissance à des descendants eux-mêmes sensibles et stabilisés. De la même manière les femelles stabilisées croisées avec des mâles dépourvus de virus donneront toujours naissance à des mouches stabilisées. Par contre, les descendants du croisement réciproque comporteront à la fois des individus normaux et d'autres sensibles au CO_2, mais "non-stabilisés".

Les mouches devenues sensibles au CO_2 à la suite d'une inoculation sont elles aussi des "non stabilisées". La transmission de la sensibilité aux descendants de ce type de mouches suit des règles différentes. Une femelle non-stabilisée croisée avec un mâle dépourvu de virus comportera dans sa descendance des individus sans virus et des individus sensibles. Parmi ces derniers, il y aura des mouches stabilisées et des mouches non-stabilisées. Le résultat du croisement réciproque montre que les mâles non-stabilisés ne transmettent jamais la sensibilité à aucun de leurs descendants.

La thermosensibilité est une caractéristique commune à presque tous les virus. Il semblait donc intéressant d'étudier l'action des traitements thermiques sur σ . Cette étude a été abordée sous ses différents aspects par plusieurs chercheurs, sous la direction de Mr L'HERITIER. L'action du chauffage sur la transmission du virus par les mâles a déjà fait l'objet d'une publication (A. SIGOT, 1953) D'autre part, de très nombreuses données ont été recueillies, concernant l'effet

des traitements thermiques sur la transmission par les femelles stabilisées (G. BRUN, thèse de Doctorat, en préparation). L'étude des effets du chauffage sur le rendement[1] en virus des Drosophiles stabilisées et non-stabilisées, qui est l'objet de ce travail, apporte donc une contribution à une étude plus générale. Elle est la suite directe d'un travail déjà ancien, réalisé par Ph. L'HERITIER et A. SIGOT (1946). Ces auteurs ont étudié "l'influence du chauffage aux différents stades du développement sur la manifestation de la sensibilité chez l'imago". La méthode de dosage du virus σ n'avait pas encore été mise au point (N. PLUS, 1950 et 1954, loc. cit.) et seul le test de sensibilité pouvait alors renseigner sur l'efficacité des chauffages appliqués aux Drosophiles. Lorsque j'ai moi-même repris plus tard cette étude, je pouvais espérer serrer de beaucoup plus près les phénomènes. Les dosages réalisés tout au long des expériences devaient me permettre de suivre la cinétique de l'action de la température. Je pouvais espérer par là même mettre en évidence des différences dans la réponse aux traitements thermiques selon le type de mouches sensibles utilisées : stabilisées et non-stabilisées. Cette éventualité apportait un nouveau moyen d'étude de la nature même de "l'état stabilisé".

Les résultats obtenus seront exposés de la manière suivante. Après la description du matériel et des techniques utilisés, nous étudierons l'évolution du rendement des Drosophiles stabilisées et non-stabilisées ; d'abord au cours du traitement thermique, puis, après retour des Drosophiles à leur température normale d'élevage. Dans un autre chapitre, seront décrits les résultats d'expériences relatives à la surinfection de Drosophiles sensibles de l'un et l'autre type, après chauffage. L'ensemble des résultats expérimentaux sera ensuite discuté, ce qui aboutira

---

(1) Au cours de ce travail, le terme de rendement est pris dans un sens un peu particulier. Il désigne le nombre de particules virales infectieuses extraites des Drosophiles dans des conditions qui seront précisées au paragraphe C.4. du chapitre I.

au rejet de deux parmi les trois hypothèses proposées. Enfin, dans un dernier chapitre, l'ensemble des faits exposés sera comparé aux résultats de chauffages appliqués à d'autres hôtes abritant également des virus - ou tout au moins des particules cytoplasmiques présentant certain des caractères des virus - dans une situation un peu analogue à celle des Drosophiles sensibles au CO_2.

-----ooOOoo-----

CHAPITRE I.

MATERIEL ET TECHNIQUES.

A. DROSOPHILES SENSIBLES UTILISEES.

Nous avons vu que les Drosophiles sensibles au CO_2 peuvent avoir trois origines différentes. Au cours de ce travail, j'ai été amenée à utiliser selon les cas : les descendants de femelles stabilisées, les individus sensibles issus du croisement d'un mâle stabilisé avec une femelle dépourvue de virus (♀ s.v.) et des Drosophiles devenues sensibles à la suite d'une inoculation.

On sait en fait que ces individus sensibles peuvent être classés en : Drosophiles stabilisées et non-stabilisées. Les différences entre ces deux types de mouches concernent le rythme d'accumulation du virus dans la Drosophile, son rendement maximum en virus mûr et la transmission de la sensibilité à ses descendants. Les Drosophiles stabilisées représentées par les descendants du premier croisement cité plus haut, présentent un rendement moins élevé que celui de mouches du deuxième type. Le rythme d'accumulation du virus y est moins rapide. La transmission de la sensibilité par les femelles est efficace à 100 %, constante dans le temps et les descendants sensibles sont eux mêmes stabilisés. La transmission par les mâles de ce premier type présente une efficacité toujours inférieure à 100 %, dont la valeur est caractéristique de la souche sensible utili-

sée (A. SIGOT, 1953.[1]

Le groupe des Drosophiles non-stabilisées comprend les mouches tenant la sensibilité de leur père, et les mouches devenues sensibles à la suite d'une inoculation de virus. Ces sensibles d'origine différente, présentent des caractéristiques analogues (N. PLUS, 1954, loc. cit.). Le rendement en virus atteint une valeur plus élevée que chez les mouches stabilisées : le rythme d'accumulation du virus y est plus rapide et la transmission de la sensibilité nettement différente. En effet la valence des femelles est inférieure à 100 % et elle évolue d'une manière caractéristique au cours du temps ; celle des mâles est nulle. (Ph. L'HERITIER et G. TEISSIER, 1945 ; Ph. L'HERITIER et F. HUGON de SCOEUX, 1947).

Au cours de mes expériences de chauffage, j'ai utilisé les différents types de Drosophiles sensibles. Parmi les Drosophiles non-stabilisées, j'ai choisi selon les cas, celles ayant reçu le virus ♂ par le spermatozoïde paternel, ou celles l'ayant reçu par inoculation de l'imago. Ces deux catégories de mouches non-stabilisées présentent l'une et l'autre, à la fois des avantages et des inconvénients pratiques importants pour le genre d'expérience que je voulais réaliser. Les mouches sensibles issues du croisement ♂ stabilisé x ♀ s.v., le sont dès l'émergence imaginale et leur rendement maximum en virus est atteint dès le début de ce stade. Dès lors, les traitements thermiques peuvent être appliqués à des Drosophiles jeunes, avantage précieux, puisqu'ils pourront être appliqués plus longtemps. Par contre, le fait qu'une fraction seulement de ces mouches est

---

(1) L. GOLDSTEIN (1951) a choisi le terme de "valence" pour désigner la fréquence de mouches sensibles issues du croisement d'un individu sensible (mâle ou femelle) avec un conjoint résistant.

sensible et ne peut être identifiée qu'en tuant l'individu, vient compliquer l'analyse des résultats expérimentaux et conduit le plus souvent à étudier un grand nombre de mouches individuelles. Une partie seulement des individus est en effet susceptible de nous intéresser. Les mouches inoculées avec une suspension virale bien choisie deviennent toutes sensibles, mais il faut attendre douze à quinze jours ce qui limite la durée des traitements thermiques applicables ultérieurement.

B. CARACTERES GENETIQUES DES VIRUS UTILISES.

Nous disposons au laboratoire de plusieurs souches de virus ♂ possédant des caractères définis. J'au utilisé entre autres, des virus porteurs d'un des deux allèles g^+/g^-(1). Le facteur g^+ conditionne la transmission de la sensibilité par les femelles inoculées. Une femelle inoculée avec un virus g^+ et croisée ensuite avec un mâle s.v. comportera un certain nombre de sensibles parmi ses descendants. Cette fréquence évolue dans le temps selon une courbe en cloche dissymétrique dite courbe de "passage au germen". Au contraire une femelle inoculée avec un virus porteur de l'allèle g^- deviendra bien elle-même sensible au CO_2, mais ses descendants seront tous des individus résistants. J'ai été amenée à employer également des virus porteurs des facteurs Tr et Ts. Nombreuses sont les souches de virus ♂ qui sont très sensibles à l'action d'une élévation de la température, elles sont dites Ts (thermosensibles). A partir de celles-ci sont apparues des souches thermorésistantes Tr. Contrairement à ce que l'on observe pour le virus Ts, Tr est capable d'accomplir un cycle de multiplication normal dans des Drosophiles maintenues à 30° C.

---

(1) Les différents mutants du virus ♂ ont été décrits dans OHANESSIAN-GUILLEMAIN, 1959.

C. TECHNIQUES HABITUELLES DU LABORATOIRE.

Ces techniques ayant été décrites en détail par N. PLUS (1954, loc. cit.) et Ph. L'HERITIER (1958, loc. cit.) je ne ferai que les rappeler ici brièvement.

1°. Elevages. Les souches de Drosophiles sensibles, sont entretenues par repiquages journaliers des parents, environ quinze mâles et quinze femelles de bouteille à bouteille, sur le classique milieu de BRIDGES à base de semoule de maïs, enrichi avec de la levure de bière sèche et ensemencé avec de la levure fraîche de boulangerie. Les Drosophiles résistantes s.v., utilisées comme mouches de référence sont les descendants d'un croisement $\varphi \frac{se +}{se +} \times \sigma \frac{+ e}{+ e}$ (1). Les deux cents couples de progéniteurs sont maintenus pendant une quinzaine de jours dans un "pondoir" où sont introduits journellement des morceaux de milieu au maïs sur lesquels les femelles déposent leurs oeufs. Ceux-ci sont placés au fur et à mesure dans des bouteilles d'élevage. On obtient ainsi des lots de mouches s.v. contemporaines et ayant été élevées sans concurrence. Les élevages sont effectués à 20° C dans des incubateurs, à température contrôlée à 0,5° C près.

2°. Test de la sensibilité au CO_2. Il importe de faire les tests dans des conditions précises étant donnés les nombreux facteurs agissant sur la manifestation de la sensibilité au CO_2. Les conditions uniformément adoptées au Laboratoire sont les suivantes. On utilise un courant de gaz carbonique pur. Pendant le passage de celui-ci dans les tubes spéciaux contenant les lots de mouches à tester, ceux-ci sont immergés dans un bac contenant de l'eau à 12,5° C. Le gaz passe pendant quinze minutes. Puis, chaque lot de mouches est mis dans un tube de verre. Les mouches sont triées quinze minutes plus tard, en résistantes et sensibles dans une

---

(1) Les mouches de la souche Oregon R.C. utilisées autrefois, ont été remplacées par ces hybrides plus robustes.

pièce dont la température est d'environ 20° C. Une mouche est considérée comme sensible quand elle se révèle être incapable de marcher.

3°. Extration du virus, inoculation. La technique de préparation des extraits virulents, dérive de celle mise au point par Ph. L'HERITIER et F. HUGON de SCOEUX (1947, loc. cit.). Les mouches endormies à l'éther sont broyées à l'aide d'un broyeur de forme conique en verre, dont le surface interne est rodée et dans lequel s'adapte un pilon rodé également. Le liquide ainsi obtenu est centrifugé à trois mille tours par minute, pendant quinze minutes, à 4° C. Le liquide surnageant, toujours conservé dans la glace pour éviter une inactivation rapide à la température du laboratoire, est injecté à des Drosophiles de référence endormies à l'éther, au moyen d'une micro-aiguille de verre obtenue en étirant du capillaire à la flamme. Les Drosophiles inoculées sont ensuite déposées dans un tube de verre contenant du milieu nutritif S101 (milieu mis au point par PEARL, ALLEN et PENIMAN), ensemencé avec de la levure fraîche. Trois fois par semaine, elles sont transportées sur un nouveau tube fraîchement préparé de manière à pouvoir disposer d'une nourriture suffisante constamment renouvelée.

4°. Dosage du virus. Lorsque des Drosophiles sont inoculées avec un extrait concentré, elles deviennent toutes sensibles au CO_2 dans un délai variable, mais qui n'excède pas vingt cinq à trente jours. Si l'on dilue l'extrait initial, il arrive un moment où une partie seulement des mouches devient sensible. La variation du pourcentage de mouches devenues sensibles à trente jours en fonction de la dilution, est conforme à l'expression : $p = 1-e^{-n_o d}$, dans laquelle p est le pourcentage de mouches sensibles, n_o le titre infectieux de l'extrait initial et d la dilution (N. PLUS, 1954, loc. cit.). Cette observation nous fournit une méthode de dosage des unités infectantes, puisqu'elle montre que lorsque la dilution est telle que seules quelques unes des mouches deviennent sensibles, celles-ci

n'ont reçu qu'une seule particule infectieuse efficace. L'unité infectante σ est alors définie comme la quantité de virus qui, inoculée à une mouche, la rend sensible avec une probabilité $1-e^{-1} = 0,633$.

Nous disposons d'une autre méthode nous permettant de doser directement les extraits concentrés qui rendent toutes les mouches inoculées sensibles au CO_2. Elle est basée sur l'observation suivante : le temps moyen mis par un lot de mouches inoculées, pour acquérir la sensibilité au CO_2 est fonction du titre de l'inoculum. La courbe temps moyen d'incubation/logarithme du nombre (n) d'unités infectantes contenues dans le volume d'extrait injecté est une droite. Elle peut être établie une fois pour toutes, pour un virus déterminé. Connaissant : le poids des mouches, le poids du liquide injecté en moyenne à celles-ci, le volume et par conséquent le poids de Ringer dans lequel ont été broyées les mouches, on calcule aisément le nombre (N) de particules présentes dans une mouche broyée[1].

Quelle que soit la virulence d'un extrait, celle-ci peut donc être déterminée après l'inoculation d'un seul lot de mouches de référence.

5°. Passage au germen [2]. J'ai dit plus haut que le virus g^+, inoculé à des femelles s.v. croisées ensuite à des mâles s.v. donnait lieu à un "passage au germen" se déroulant selon une cinétique caractéristique. Avec le virus g^- au contraire, il n'y a pas "passage au germen". Dans certaines des expériences réalisées, il me fallait préciser le caractère g^+ ou g^- d'un virus. Cette identification

---

(1) Des expériences de pesées de mouches avant et après inoculation, m'ont amenée à adopter comme valeurs moyennes : poids d'une mouche 1,25 mg, poids de liquide injecté à une mouche 0,5 mg.

---

(2) La technique de passage au germen que j'ai utilisée, qui dérive de celle mise au point par N. PLUS (1954, loc. cit.) a été décrite par A. OHANESSIAN (thèse de Doctorat, Paris, sous presse).

est alors réalisée de la manière suivante : l'extrait virulent est injecté à quinze femelles s.v. qui sont ensuite croisées avec des mâles s.v. Les progéniteurs sont placés dans des tubes contenant du maïs et transvasés sur des tubes frais trois fois, à trois jours d'intervalle. Les dixième, quatorzième, dix-huitième et vingt-deuxième jours après l'inoculation, les progéniteurs sont transvasés matin et soir et seuls les tubes contenant la ponte de ces quatre journées sont après éclosion des mouches soumis au test pour la détection éventuelle de sensibles. En effet, le maximum de la courbe de passage au germen est toujours situé pendant cette période. On peut donc s'attendre dans le cas d'un virus g^+, à trouver effectivement des mouches sensibles dans deux au moins, sinon trois ou quatre de ces tubes. L'absence totale de sensibles indique par contre que l'on a affaire à un virus g^-.

D. TECHNIQUES PARTICULIERES AUX EXPERIENCES DE CHAUFFAGE.

1°. Température. Il me fallait choisir une température de chauffage dont l'effet soit assez net pour pouvoir être étudié et qui soit compatible avec la survie de la Drosophile. Après différents essais ayant porté sur des températures allant de 25° C à 32° C, j'ai finalement choisi 30,5° C. Cette température autorise des chauffages relativement longs après lesquels les mouches sont encore dans un état physiologique satisfaisant.

2°. Chauffages imaginaux. Les imagos sont placées dans des tubes contenant du S101 pour lesquels il faut prendre des précautions particulières. En effet dans les tubes portés à 30° C, le milieu devient rapidement gluant et les mouches risquent de se coller sur sa surface. Pour éviter au maximum cet accident, les tubes de S101 ne comportent jamais plus de cinquante mouches et sont remplacés chaque jour par des tubes neufs. Ceux-ci étant normalement stockés à 4° C, ils sont toujours laissés un certain temps à la température du laboratoire

avant de recevoir les mouches et d'être placés dans l'étuve à 30° C. En effet le réchauffement des tubes ne doit pas être trop brutal car cela risque d'entraîner une condensation de buée sur les parois qui amène l'engluement des mouches. Le même risque pouvant provenir de la présence de levure de boulangerie trop épaisse, les tubes étaient ensemencés avec une très petite quantité de levure bien diluée. Dans ces conditions, les mouches peuvent être conservées à 30° C pendant des périodes de dix à vingt cinq jours malgré une mortalité en moyenne beaucoup plus élevée que celle que l'on observe à 20° C. Faible au cours de la première semaine de chauffage, elle atteint ensuite rapidement une valeur élevée qui oblige à prévoir pour les lots de mouches devant être chauffés à 30° C au delà de douze à quinze jours, des effectifs trois à quatre fois supérieurs au nombre de mouches que l'on désire avoir effectivement à sa disposition.

3°. Chauffages préimaginaux. Les mouches ont été chauffées à deux stades différents précédant l'émergence imaginale : l'oeuf et la nymphe. Dans le premier cas, quatre femelles et quatre mâles sont déposés dans un tube contenant du milieu au maïs placé à 30° C (le milieu S101 ne convient pas au développement des mouches et est donc réservé aux insectes parfaits). Ces mouches sont retirées au bout de vingt-quatre heures. Les tubes contenant la ponte peuvent être laissés vingt-quatre heures de plus à 30° C pour obtenir des chauffages de quarante-huit heures, avant d'être remis définitivement à 20° C. Dans le deuxième cas, ce sont des bouteilles où un certain nombre de progéniteurs (environ quinze femelles et quinze mâles) ont été maintenus au maximum pendant vingt-quatre heures, qui sont placés à 30° C juste après le passage de l'ensemble des larves au stade nymphal. Dans ces conditions les éclosions des imagos ont lieu au bout de trois jours et les bouteilles sont alors replacées dans l'étuve à 20° C.

4°. Périodes d'application du traitement thermique choisies selon les expériences et le type de mouches. L'évolution à 20° C du rendement en virus d'une Drosophile est différente selon le type de Drosophile sensible considéré. Nous avons dit que la multiplication virale est semblable chez les mouches injectées au stade imago avec une suspension virale et chez celles ayant été "inoculées" au stade oeuf par le spermatozoïde. La période d'accumulation rapide du virus mûr avant l'établissement d'un plateau qui reste ensuite stable pendant la durée de la vie de la mouche, caractérise la multiplication du virus chez les mouches non-stabilisées. Chez les mouches stabilisées, on observe aussi une accumulation de virus mûr que nous savons être moins rapide et un plateau final moins élevé (figure 1 p. 14).

De ces différentes notions, il ressort que si l'on veut chauffer des mouches dont le rendement en virus a atteint le plateau final, les chauffages seront dans tous les cas appliqués à des imagos. Pour les chauffages devant intervenir pendant la période d'accumulation du virus, il faudra selon le type de Drosophiles choisi, les appliquer à des stades différents du développement de l'insecte. Ainsi les chauffages seront encore imaginaux dans le cas des mouches inoculées (mouches non-stabilisées), mais interviendront à un stade préimaginal chez les stabilisées, et chez les mouches inoculées au stade oeuf par le spermatozoïde (mouches non-stabilisées). Selon les expériences, j'ai réalisé soit des chauffages uniques plus ou moins longs, intervenant à des moments variés, soit des chauffages successifs, séparés par un retour à la température normale d'élevage, c'est-à-dire 20° C.

5°. Représentation graphique des résultats expérimentaux. Afin que ceux-ci puissent être plus aisément comparés les uns aux autres, j'ai adopté dans tous les cas le même système de coordonnées. Les courbes représentent l'évolution dans le temps (abscisses) du nombre de particules infectieuses fournies par une Droso-

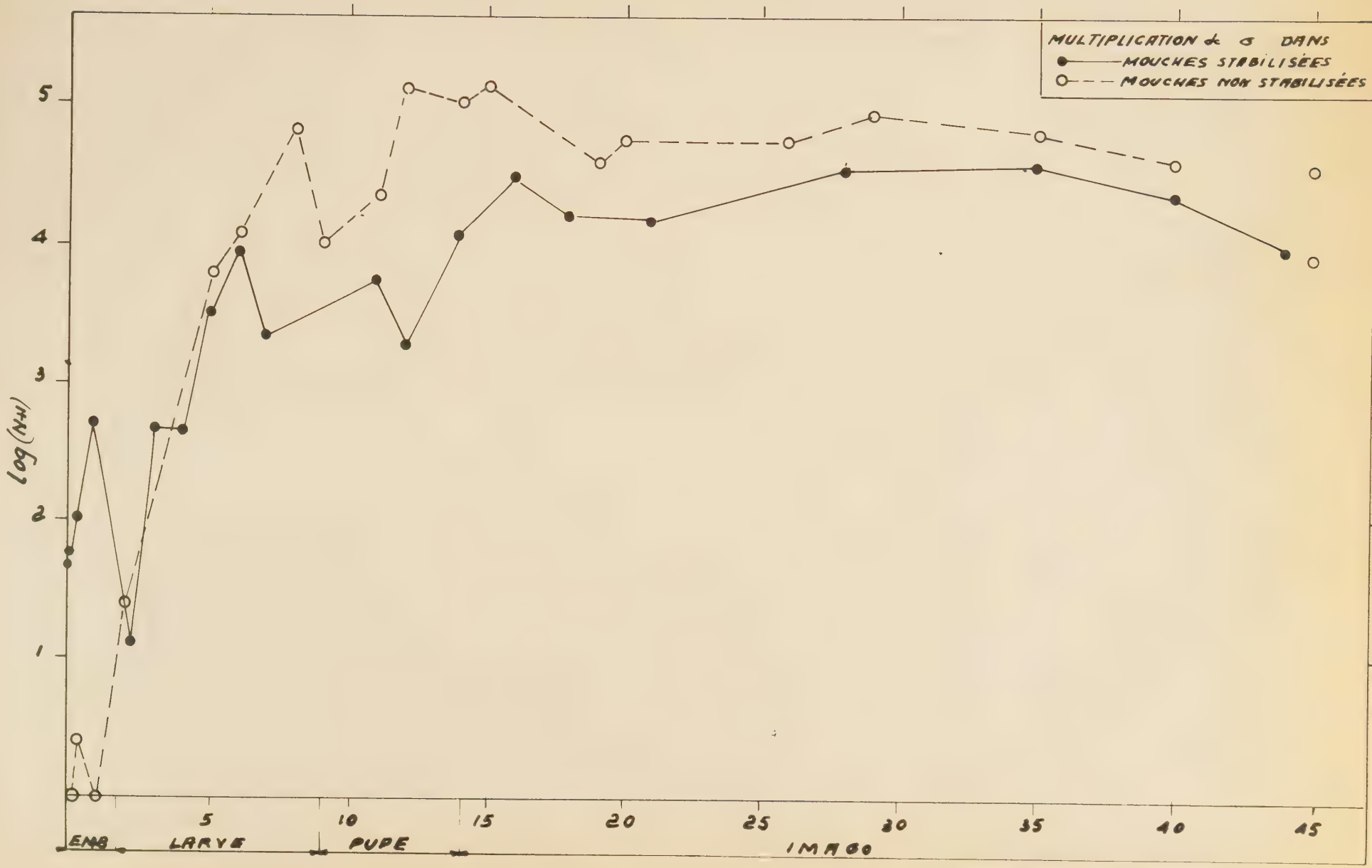


Fig. 1

- Evolution du rendement en virus, de Drosophiles placées à 20° C.

phile individuelle, en unités logarithmiques. La métrique portée en ordonnée est le logarithme du nombre de particules plus 1 (log. (N+1)). Ceci évite l'emploi de logarithmes négatifs et aboutit à une valeur zéro quand le nombre de particules par mouche est effectivement égal à zéro.

-----ooOOoo-----

CHAPITRE II.

EVOLUTION DU RENDEMENT EN VIRUS MUR, DE DROSOPHILES CHAUFFEES A 30° C.

A. CHAUFFAGES INTERVENANT UNE FOIS LE "PLATEAU" FINAL ETABLI.

1. Description de trois expériences type.

Expérience 1 portant sur des mouches stabilisées. Les mouches sensibles utilisées dans cette expérience sont les descendants de croisements réalisés entre des femelles vierges de la souche stabilisée S4 et des mâles s.v. Le virus est thermosensible. Nous savons que les filles d'une femelle stabilisée sont elles-mêmes stabilisées, quel que soit le conjoint choisi. Tous les individus issus du croisement indiqué seront donc sensibles. Les mâles s.v. ont été choisis de préférence à des mâles stabilisés afin que les résultats de cette expérience puissent être comparés avec ceux de l'expérience 2. Celle-ci a été réalisée sur les mouches non-stabilisées issues du croisement réciproque ♀ vierges s.v. x ♂ stabilisé S4.

Afin d'obtenir un grand nombre de Drosophiles du même âge, des croisements ont été effectués sur différentes bouteilles de maïs. Dans chacune d'elles sont déposées quinze femelles vierges S4 ainsi que quinze mâles s.v. et ces Drosophiles sont transvasées chaque jour sur des bouteilles d'élevage fraîches. On obtient ainsi, à partir de chaque lot de progéniteurs, une série de descendances. En fin de ponte, les progéniteurs sont soumis au test du CO_2. Dans cette expérience, ils ont tous été trouvés sensibles. Un second contrôle est opéré en sou-

mettant au test les descendants correspondant aux trois premiers jours de ponte de chaque série. Seules sont conservées les séries qui n'ont présenté que des individus sensibles aux deux tests successifs[1]. Deux d'entre elles sont alors choisies pour réaliser l'expérience. Le protocole est le suivant. Un premier lot de mouches sera maintenu à 20° C pendant toute la durée de l'expérience et servira de témoin. Trois autres lots subiront des périodes de chauffage commençant respectivement deux jours, seize jours et vingt-un jours après l'émergence imaginale. Ils sont désignés respectivement par les lettres P (précoce), T (tardif) et TT (très tardif). Chaque lot est constitué par les mouches provenant de deux bouteilles portant la même date (date de la ponte), le contenu de celles-ci ayant été mélangé vingt-quatre heures après l'émergence imaginale et réparti aussitôt sur des tubes de S101, par groupe de cinquante individus au maximum. L'évolution du rendement est suivie dans chacun des lots par les dosages d'extraits virulents, obtenus en broyant ensemble quinze à vingt mouches (environ moitié de mouches de chaque sexe). Cet effectif a été choisi afin d'atténuer les variations importantes qui existent dans les rendements individuels. Les broyats sont effectués deux fois par semaine dans le lot témoin et chaque jour dans chacun des lots soumis à un chauffage.

Le tableau I présente les valeurs obtenues tout au long de l'expérience dans les différents lots. Je rappelle que le nombre de particules N est rapporté

---

(1) On sait que, dans les souches stabilisées, apparaissent de temps à autre des individus résistants au CO_2 et dépourvus de virus. Ce phénomène, appelé décrochage, a été étudié par J. ICONOMIDIS et Ph. L'HERITIER, 1961. Les deux contrôles pratiqués au cours de la préparation du matériel expérimental permettent d'opérer sur des mouches dans l'ascendance desquelles aucun décrochage ne s'est produit au cours des deux dernières générations.

à la mouche individuelle broyée; les valeurs présentées sont les logarithmes décimaux de ces nombre + 1 : log. (N + 1).

Il apparaît tout d'abord (voir aussi la figure 2, p. 20) que le lot témoin conservé à 20° C présente un rendement constant pendant toute la durée de l'expérience. Le "plateau" final dont nous avons déjà parlé est, par conséquent, déjà atteint au moment de l'émergence imaginale.

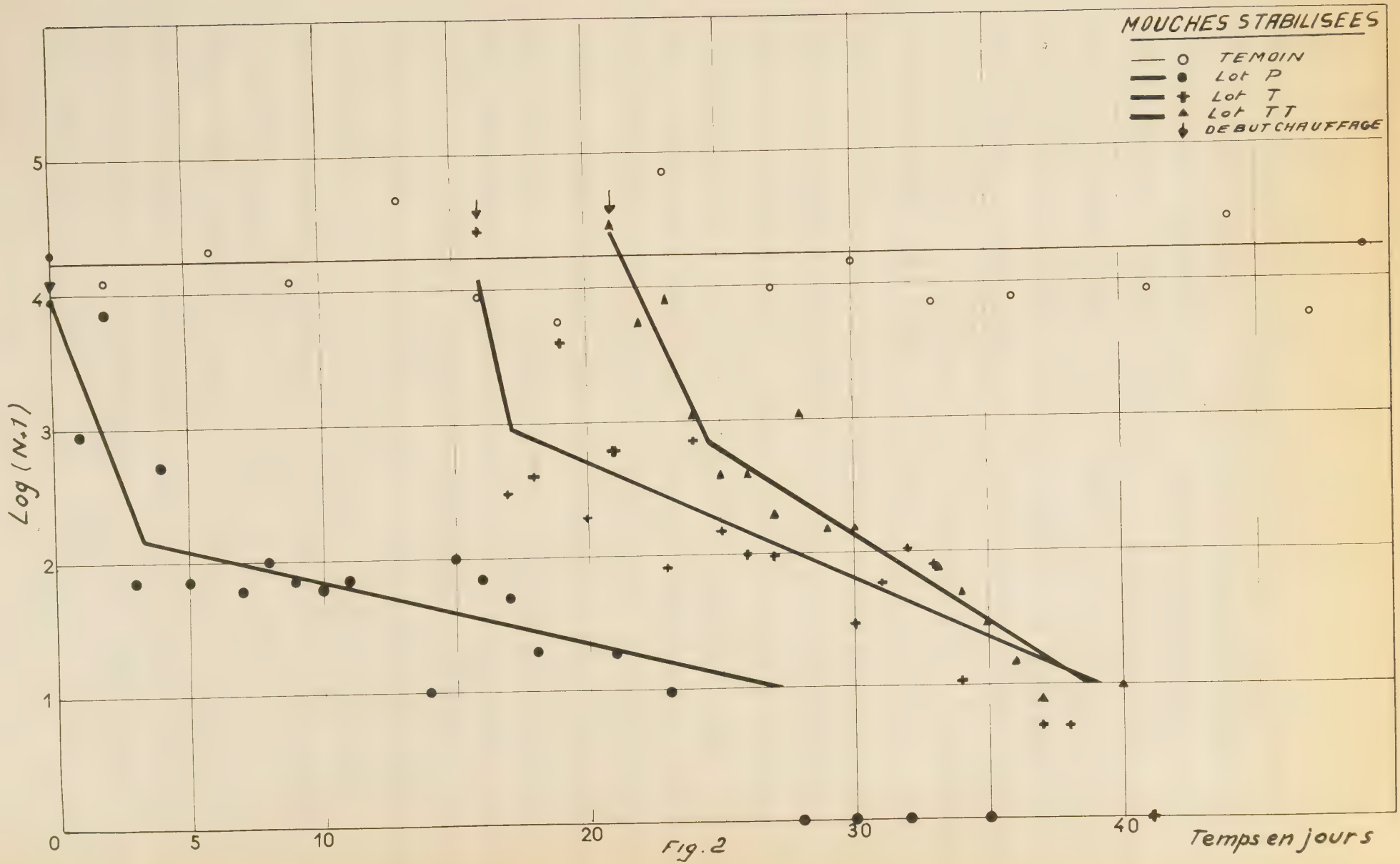
L'évolution du rendement dans les trois lots chauffés est caractérisée par une baisse continue très importante, puisqu'elle conduit pratiquement à des rendements nuls ou sub-nuls dans les trois cas. On peut, en effet, penser que si le chauffage du lot TT avait pu être prolongé pendant quelques jours, il aurait lui-même atteint ce rendement. En étudiant le graphique (figure 2) sur lequel sont reportées toutes les valeurs figurant dans le tableau I, il apparaît que, dans le système de coordonnées utilisées, la diminution du rendement peut se représenter par deux droites successives, la pente de la première étant plus forte que celle de la seconde. Les irrégularités expérimentales tendent à masquer cette situation. Malgré tout, l'existence de ces deux pentes ne peut faire aucun doute pour les courbes P et T. Pour la courbe TT, on voit qu'une droite ajustée aux dix ou douze derniers points expérimentaux s'écarterait très nettement des premiers, ceux-ci se plaçant tous au-dessus. Il est donc logique d'ajuster une autre droite à ces points. Il semble donc qu'il n'y ait pas de différence fondamentale entre cette courbe TT et les courbes P et T. Je reviendrai par ailleurs sur le cas de ces chauffages très tardifs.

Pour chacune des séries, j'ai donc été amenée à construire deux droites de régression distinctes ; la première correspondant aux points expérimentaux du début du chauffage, la seconde aux points suivants. Il a fallu, dans chaque cas, choisir au vu des données expérimentales, le point correspondant au changement de

TABLEAU I. Evolution du logarithme du rendement de Drosophiles stabilisées. Lot témoin à 20° C; lots P, T et TT chauffés après deux, seize et vingt-un jours passés à 20° C.

Lot témoin 20° C		Lot P 30° C		Lot T 30° C		Lot TT 30° C	
n ième j	log.(N+1)	n ième j	log.(N + 1)	n ième j	log.(N + 1)	n ième j	log.(N + 1)
0	4,25	0	3,97	0	4,43	0	4,45
2	4,09	1	2,95	1	2,48	1	3,73
6	4,31	2	3,85	2	[2,60]	2	3,90
9	4,08	3	[1,85]	3	3,59	3	3,04
13	4,67	4	2,70	4	2,18	4	[2,60]
16	3,95	5	1,85	5	2,78	5	2,60
19	3,76	7	1,78	7	1,91	6	2,30
23	4,85	8	2,00	8	2,85	7	3,04
27	3,98	9	1,85	9	2,18	8	2,18
30	4,17	10	1,78	10	2,00	9	2,18
33	3,85	11	1,85	11	1,96	12	1,91
36	3,89	14	1,00	14	1,49	13	1,70
41	3,93	15	2,00	15	1,79	14	1,49
44	4,45	16	1,85	16	2,04	15	1,18
47	3,73	17	1,70	17	1,91	16	0,90
49	4,23	18	1,30	18	1,04	19	1,00
		21	1,30	21	0,70		
		23	1,00	22	0,70		
		28	0	25	0		
		30	0				
		32	0				
		35	0				

Les chiffres encadrés représentent les points "charnière", communs aux deux segments de droite traduisant chaque chauffage.



- Evolution du rendement en virus d'imagos stabilisées, placées à 30° C.

pente. Ce point a toujours été inclus dans le calcul de chacune des deux droites ajustées. Cette technique de représentation comporte manifestement une part d'arbitraire ; notons toutefois que, pour l'ensemble des courbes qui ont été construites, les cas furent très rares où il pouvait y avoir quelque hésitation sur la position de la cassure. D'autre part, le fait de situer la "cassure" un jour en avant ou en arrière ne peut apporter dans les équations des droites correspondantes et partant, dans les pentes de celles-ci, que des variations très faibles. Dans cette expérience comme dans toutes les autres, je n'ai tenu compte que des points traduisant l'évolution du rendement jusqu'au niveau, dix particules par mouche environ (c'est-à-dire un en logarithme) et ceci pour deux raisons. Tout d'abord, au-dessous de cette valeur, les dosages sont assez imprécis. En effet, ils correspondent à des lots de mouches injectées ne comportant au bout de vingt-cinq jours qu'un très petit nombre de sensibles. Ces mouches âgées et ayant déjà subi de nombreux tests au CO_2 ont des chances non négligeables de succomber à un test supplémentaire, même si elles ne contiennent pas de virus. Théoriquement, ces "fausses sensibles" peuvent être diagnostiquées comme telles. Il suffit de broyer individuellement toutes les mouches qui ont été classées comme sensibles et d'injecter chacun des extraits obtenus à un lot de mouches de référence qui seront testées par la suite. Les lots injectés avec un extrait de mouche sensible comporteront eux-mêmes des sensibles, les autres ne comportant évidemment que des mouches résistantes. Malheureusement, il n'est pas toujours matériellement possible de réaliser ce test et la précision des dosages très faibles est alors assez mauvaise. Une deuxième raison m'a fait rejeter ces faibles dosages. Dans le calcul de l'équation d'une droite, et, partant de la pente de celle-ci, la différence entre deux points, exprimée en unités logarithmiques, prend la même importance quelle que soit la valeur de la caractéristique. Il s'ensuit qu'une différence de 0,53 unités logarithmiques par exemple, pourra traduire, selon les cas, une différence

de sept particules (1 - 0,47), ou de sept mille particules (4,0 - 3,47). Avec notre méthode de dosage, l'erreur relative sur celui-ci est très grande lorsque le dosage est faible, et le premier type d'erreur : sept particules sur dix, est beaucoup plus probable que l'erreur sept mille particules pour dix mille. Dans ces conditions, inclure dans les calculs conduisant à l'estimation des pentes, les points d'ordonnées inférieures à un, serait très illogique. Ce serait en effet leur donner une importance sans commune mesure avec leur valeur réelle.

Pour chacune des courbes P, T et TT, les pentes ont été calculées en prenant pour limite les points :

trois jours - 1,85 pour la courbe P

deux jours - 2,60 " " " T

quatre jours - 2,60 " " " TT (points encadrés sur le Tableau I).

Les chiffres obtenus sont les suivants :

Série P. $b_1 = - 0,55 \pm 0,37$ ($\nu = 2$) $b_2 = - 0,05 \pm 0,01$ ($\nu = 13$)

Série T. $b_1 = - 0,91 \pm 0,85$ ($\nu = 1$) $b_2 = - 0,09 \pm 0,02$ ($\nu = 12$)

Série TT. $b_1 = - 0,44 \pm 0,08$ ($\nu = 3$) $b_2 = - 0,13 \pm 0,02$ ($\nu = 10$).

Les erreurs sur l'estimation des premières pentes sont élevées et en raison du petit nombre de degrés de liberté avec lequel elles ont été calculées, les intervalles de confiance sont très grands. En effet $\nu = n - 2$ ce qui nous donne respectivement 2,1 et 3 degrés de liberté. Toutefois, la différence qui existe entre les deux pentes d'une même série est telle que nous ne pouvons guère douter de la réalité du phénomène. De plus, comme nous le verrons plus loin, la même situation a été rencontrée un grand nombre de fois.

Expérience 2, réalisée sur des mouches non-stabilisées tenant la sensibilité de leur père. Cette expérience, dont le protocole est en tous points semblable à celui de l'expérience 1, ne diffère de celle-ci que par le type de mouches

utilisées. Ce sont les descendants du croisement de femelles s.v. avec des mâles stabilisés de la même souche S4. Les progéniteurs ont été testés, comme dans l'expérience 1, afin de s'assurer que tous les mâles étaient sensibles et les femelles résistantes. Les descendants des premières pontes ont été testés, afin de déterminer la "valence des mâles". Celle-ci fut trouvée égale à trente pour cent. Les trois lots chauffés E, L et LL ont été placés à 30° C respectivement un, seize et vingt-deux jours après l'émergence imaginale. Les résultats expérimentaux sont groupés dans le tableau II et la figure 3 (p.25).

On voit immédiatement que l'on retrouve les mêmes phénomènes que dans le cas des mouches stabilisées. Une baisse importante du rendement en virus a lieu quel que soit le moment auquel intervient le chauffage. La cinétique de cette baisse est elle-même tout à fait comparable à celle de l'expérience 1. Chaque courbe présente en effet deux pentes différentes, la première étant plus forte que la seconde. Les valeurs estimées pour les différentes pentes sont :

Série E. $b_1 = -0,36 \pm 0,08$ ($\nu = 10$) $b_2 = -0,04 \pm 0,007$ ($\nu = 5$)

Série L. $b_1 = -0,17 \pm 0,03$ ($\nu = 9$) $b_2 = -0,09 \pm 0,02$ ($\nu = 6$)

Série LL. $b_1 = -0,18 \pm 0,04$ ($\nu = 5$) $b_2 = -0,09 \pm 0,02$ ($\nu = 8$).

Expérience 3, réalisée sur le deuxième type de Drosophiles non-stabilisées (mouches inoculées avec un extrait virulent). Le protocole diffère de celui des deux expériences précédemment décrites en raison même du matériel utilisé. Les mouches s. v. sont placées dans l'étuve à 20° C aussitôt après l'inoculation. Elles y sont maintenues pendant le temps nécessaire à ce que le nombre de particules de virus mûr atteigne le "plateau". L'accumulation du virus à 20° C est suivie par des broyats effectués tous les deux ou trois jours. Douze jours après l'inoculation, une partie des mouches est placée dans l'étuve à 30° C. L'évolution du dosage est suivie dans les deux lots (témoin et chauffé) par la technique habituelle.

TABLEAU II. Evolution du logarithme du rendement des Drosophiles non-stabilisées (issues du croisement ♀ s.v. x ♂ stabilisé S4). (Lot témoin à 20° C, lots E, L et LL chauffés après un, seize et vingt-deux jours passés à 20° C.)

Lot témoin 20° C		Lot E 30° C		Lot L 30° C		Lot LL. 30° C	
n^ième j.	log.(N + 1)	n^ième j	log.(N + 1)	n^ième j	log.(N + 1)	n^ième j	log.(N + 1)
1	4,62	0	4,82	0	4,15	0	4,42
2	4,49	1	3,89	1	4,01	1	3,93
8	4,57	2	4,08	2	3,95	2	4,19
12	4,14	3	3,39	3	3,91	3	3,88
16	4,91	5	3,81	4	3,63	4	4,27
20	4,41	6	2,30	5	3,56	7	3,37
23	4,35	7	[1,78]	7	2,88	8	[2,70]
26	4,73	8	1,90	8	3,45	9	2,48
29	4,80	9	2,18	9	3,22	10	2,40
32	3,97	10	2,00	10	2,54	11	2,48
35	3,98	12	1,70	11	[1,95]	12	2,65
39	4,28	13	1,70	14	1,95	14	1,95
41	4,63	14	1,70	15	1,95	15	1,95
46	3,53	15	1,60	16	1,70	16	1,70
		19	1,70	17	1,95	19	2,18
		20	1,48	18	1,48	21	1,00
		23	1,30	21	1,30		
		26	1,30	22	1,00		
		29	0,00	25	0,00		

Notons qu'étant donnée la présence de soixante dix pour cent de résistantes dans ces mouches non-stabilisées, les rendements indiqués sont les rendements moyens d'une mouche broyée et non d'une mouche sensible. Une correction simple nous donnerait cette dernière valeur, mais ne changerait pas l'allure des courbes.

Les chiffres encadrés représentent les points "charnière" communs aux deux segments de droite traduisant chaque chauffage.

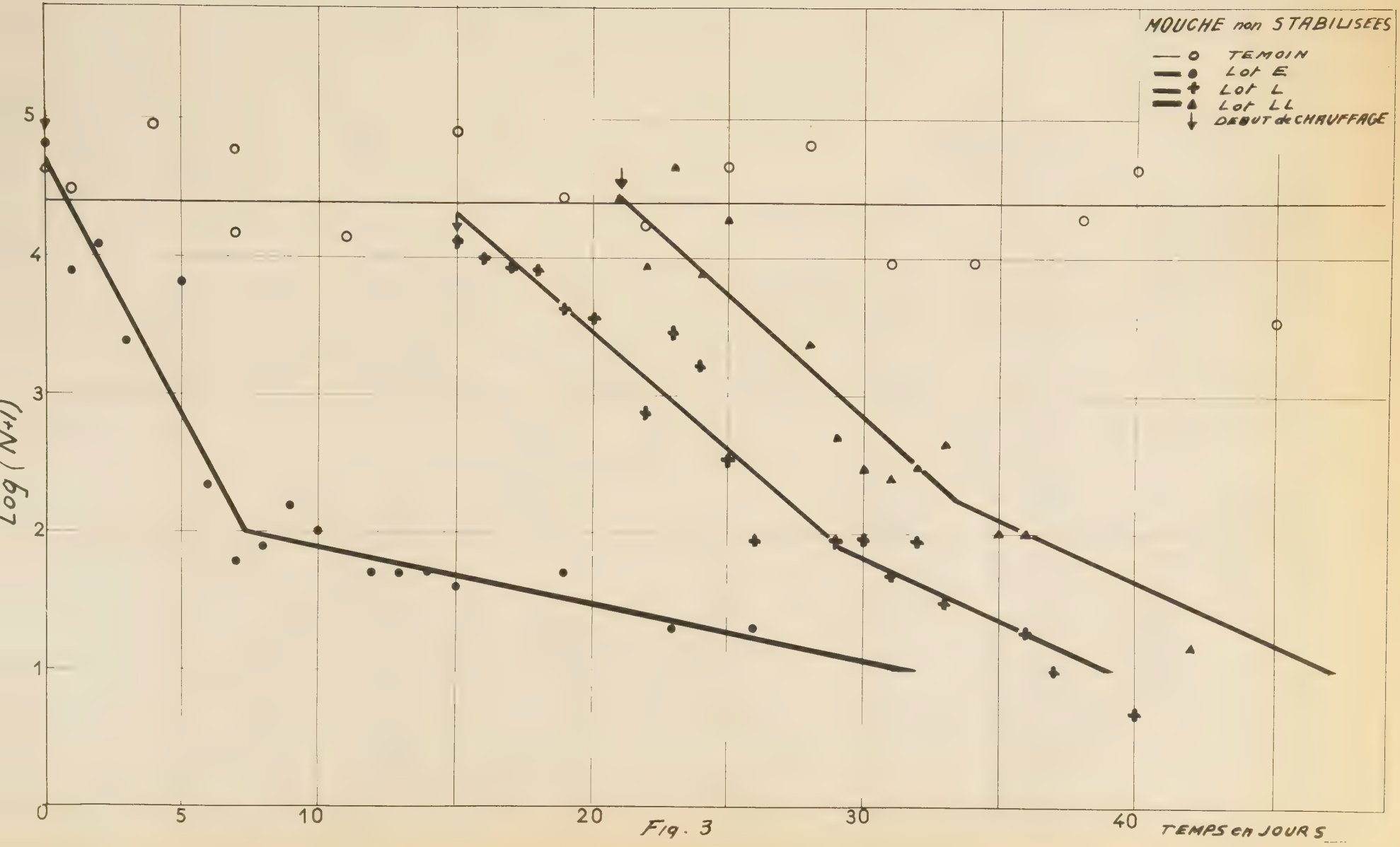


Fig. 3

· - Evolution du rendement en virus d'imagos non-stabilisées (mouches issues du croisement ♀ s.v. x ♂ stabilisé) placées à 30° C.

On observe à nouveau la même évolution, caractéristique du rendement chez les mouches chauffées (Tableau III et figure 4, (p. 27).

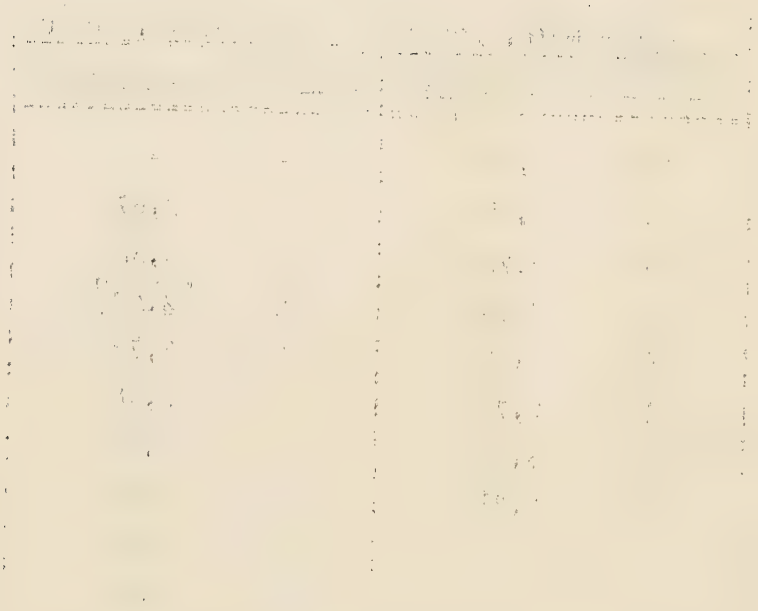
Les pentes estimées sont respectivement :

$b_1 = - 0,50 \pm 0,12$ ($\nu = 1$) $b_2 = - 0,06 \pm 0,01$ ($\nu = 6$).

TABLEAU III. Evolution du logarithme du rendement de Drosophiles non-stabilisées (Drosophiles inoculées avec un extrait virulent). Un lot témoin à 20° C, un lot chauffé douze jours après l'inoculation.

Lot témoin, 20° C		Lot chauffé, 30° C	
$n^{ième}$ j	log. (N + 1)	$n^{ième}$ j	log. (N + 1)
10	3,71	-	-
12	3,67	0	3,67
14	3,71	1	3,32
18	3,18	2	2,60
24	3,69	3	2,78
27	2,78	6	2,48
31	3,53	7	2,60
38	3,51	9	2,20
		12	2,11
		19	2,11
		23	1,61

Le chiffre encadré représente le point "charnière" commun aux deux segments de droite traduisant le chauffage.



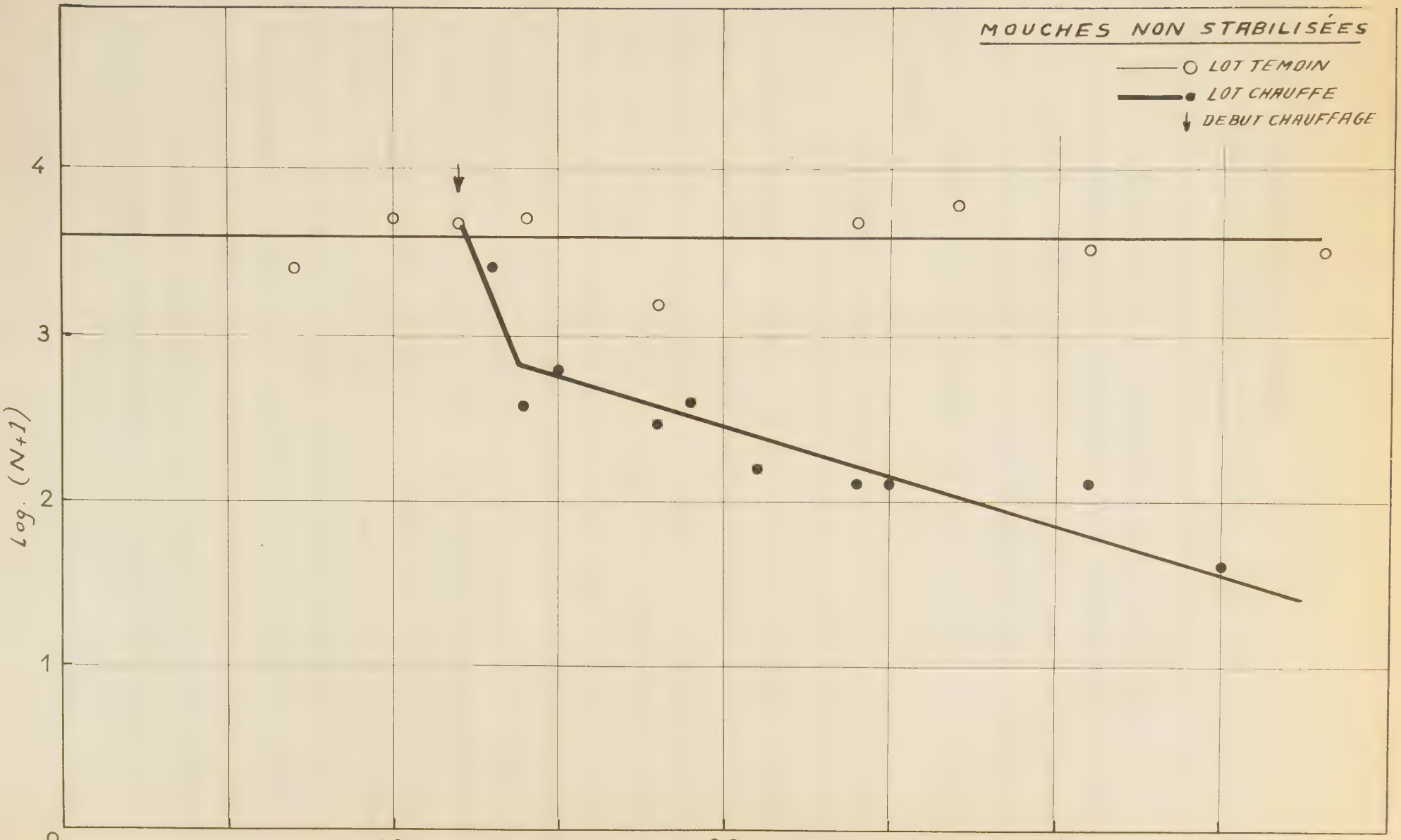

MOUCHES NON STABILISÉES
LOT TEMOIN
LOT CHAUFFE
DEBUT CHAUFFAGE
Log. (N+1)
0
1
2
3
4
10
20
30
NOMBRE DE JOURS APRES INOCULATION

Fig. 4

2. Généralité du phénomène.

Nous avons vu en détail trois exemples de l'évolution du rendement en virus de Drosophiles stabilisées et non-stabilisées chauffées à 30° C. De nombreuses autres expériences ont été réalisées qui permettent de conclure à la généralité des phénomènes décrits. L'évolution se traduit toujours par une courbe à deux pentes quels que soient : a) le type de Drosophiles sensibles utilisées, b) la période à laquelle intervient le début du chauffage une fois le "plateau" final établi, c) le numéro d'ordre du chauffage lorsque l'expérience en comporte plusieurs successifs.

C'est ce qui apparaît dans les tableaux IV et V où sont rassemblés les résultats des différentes expériences réalisées. A côté de trente-deux cas qui présentent nettement deux pentes, on voit que quatre chauffages figurent dans la colonne "une seule pente" : trois concernant des mouches stabilisées (F, H, K, tableau IV), une des non-stabilisées (o, tableau V). Ces quatre exceptions sont toutes relatives à des chauffages appliqués à des mouches âgées de plus de vingt-cinq jours. J'ai pu observer au cours des expériences réalisées, que l'évolution du rendement chez des mouches âgées approchant du terme de leur longévité normale, présentait souvent des anomalies et ceci à 20° C comme à 30° C. C'est ainsi que dans les lots témoin conservés à 20° C, les broyats des dernières survivantes indiquent parfois une baisse brutale du rendement qui succède à de nombreux dosages de valeur constante caractéristique du "plateau". Chez ces mouches sénescentes, l'évolution du rendement en virus n'est donc plus comparable à celui qui est caractéristique d'individus sains, en bon état physiologique, et, il est donc légitime de ne pas tenir compte de ces quatre expériences F, H, K et o.

Deux autres cas exigent quelques remarques. Ils correspondent à des chauffages de mouches non-stabilisées (b et v du tableau V) et ont été classés

TABLEAU IV. Pentes des droites traduisant l'évolution à 30°C du rendement en virus mûr de mouches stabilisées.

N° de l'exp.	Nom de la cour-be	N° d'ordre du chauf-fage	Début chauffage par rapport à début plateau/ âge approximatif des mouches chauffées	Une seule pente		Deux pentes				Baisse logarithmique totale pendant première pente
				b	ν	b_1	ν	b_2	ν	
I	A	1	précoce 3 j.	-		*-0,56 ± 0,09	1	*-0,14 ± 0,008	5	1,02
I	B	2	tardif 18 j.	-		*-0,50 ± 0,10	2	*-0,05 ± 0,04	3	1,52
II	D	1	précoce 3 j.	-		-0,41 ± ?	0	*-0,04 ± 0,01	7	0,94
II	E	2	tardif 18 j.	-		*-0,53 ± 0,06	3	*-0,05 ± 0,02	11	0,93
II	F	3	tr. tardif 31j.	- 0,15 ±001	5	?		?		
III	G	1	précoce 4 j.	-		*-0,42 ± 0,03	3	*-0,04 ± 0,01	10	1,27
III	H	1	tr. tardif 26j.	- 0,19 ±007	10	?		?		
III	I	2	précoce 4 j.	-		*-0,70 ± 0,03	3	*-0,09 ± 0,01	11	2,32
III	J	2	tardif 19 j.	-		-0,94 ± ?	0	*-0,11 ± 0,05	9	1,66
III	K	2	tr. tardif 26j.	- 0,35 ±005	8	-		-		
III	L	3	tardif 19 j.	-		-1,02 ± ?	0	*-0,09 ± 0,08	7	0,85
IV	M	1	précoce (2-5)j.	-		*-0,57 ± 0,08	2	*-0,11 ± 0,02	14	2,23
V	N	1	précoce 2 j.	-		*-0,55 ± 0,37	2	*-0,05 ± 0,01	13	1,81
V	O	1	tardif 16 j.	-		-0,91 ± 0,85	1	*-0,09 ± 0,02	12	1,13
V	P	1	tr. tardif 21j.	-		*-0,44 ± 0,08	3	*-0,13 ± 0,02	10	1,57

ν représente le nombre de degrés de liberté.

Le deuxième chauffage I fait suite à un chauffage nymphal.

Le troisième chauffage L a été précédé d'un chauffage nymphal et d'un autre imaginal.

TABLEAU V. Pentes des droites traduisant l'évolution à 30°C du rendement en virus mûr de mouches non-stabilisées.

N° de l'exp.	Nom de la cour-be	N° d'ordre du chauf-	Début chauffage par rapport à début plateau/ âge approximatif des mouches chauffées	Une seule pente		Deux pentes				Baisse logarithmique totale pendant première pente
				b	ν	b_1	ν	b_2	ν	
I	a	1	précoce 2 j.	-		✱-0,16 ± 0,02	4	✱-0,07 ± 0,02	6	1,73
I	b	2	précoce 17 j.	-		-0,12 ± 0,06	5	-0,10 ± 0,01	12	1,28
I	c	2	tr. tardif 27j.	-		✱-0,25 ± 0,15	2	✱-0,11 ± 0,04	3	0,91
I	d	3	tr. tardif 29j.	-		✱-0,41 ± 0,06	2	✱-0,03 ± 0,03	5	1,01
II	e	1	précoce 2 j.	-		✱-0,37 ± 0,06	3	✱-0,15 ± 0,02	15	1,18
III	f	1	tardif 20 j.	-		✱-0,37 ± 0,06	3	✱-0,13 ± 0,03	10	1,22
IV	g	1	précoce 2 j.	-		✱-0,36 ± 0,08	5	✱-0,04 ± 0,007	9	2,69
IV	h	1	tardif 18 j.	-		✱-0,17 ± 0,03	8	✱-0,09 ± 0,02	6	2,42
IV	i	1	tr. tardif 24j.	-		✱-0,18 ± 0,04	5	✱-0,09 ± 0,02	8	2,43
V	j	1	précoce 12 j.	-		✱-0,32 ± 0,04	5	✱-0,06 ± 0,02	6	1,86
VI	k	1	précoce 13 j.	-		✱-0,58 ± 0,07	3	✱-0,04 ± 0,04	5	2,28
VII	l	1	précoce 20 j.	-		✱-0,31 ± 0,02	4	✱-0,09 ± 0,04	7	1,40
VIII	m	1	précoce 15 j.	-		✱-0,23 ± 0,03	4	✱-0,08 ± 0,03	2	1,35
IX	n	1	précoce 14 j.	-		-0,50 ± 0,12	1	✱-0,06 ± 0,01	6	0,88
IX	o	1	tardif 26 j.	-0,10 ± 0,01	5	-		-		
X	p	1	précoce 15 j.	-		-0,25 ± 0,10	1	✱-0,12 ± 0,05	2	1,18
XI	q	1	précoce 7 j.	-		✱-0,29 ± 0,07	3	✱-0,11 ± 0,05	2	1,15
XII	s	1	précoce 15 j.	-		✱-0,47 ± 0,10	3	✱-0,10 ± 0,07	11	2,38
XII	t	1	précoce 15 j.	-		-0,38 ± 0,005	1	✱-0,21 ± 0,07	5	0,72
XII	u	1	précoce 15 j.	-		✱-0,37 ± 0,06	5	-0,01 ± 0,16	1	3,19(?)
XII	v	1	tr. tardif 54j.	-		-0,32 ± 0,08	3			

comme présentant chacun deux pentes différentes.

Dans l'expérience b, l'existence de deux pentes repose sur le fait que la droite ajustée aux quatorze derniers points expérimentaux ($b_2 = - 0,10 \pm 0,01$), laisse les six premiers au-dessus. La pente de la droite passant par ces points est cependant très voisine de la précédente ($b_1 = - 0,12 \pm 0,06$) ; elle est d'ailleurs affectée d'une erreur importante. Il semble donc que l'existence de deux pentes soit bien réelle, mais la différence entre elles est beaucoup plus faible que dans les autres expériences. Dans le deuxième cas (courbe v), il existe une cassure très nette entre les deux droites. La première pente a pu être normalement calculée d'après les cinq premiers points expérimentaux. La droite ajustée aux trois derniers points aurait une pente beaucoup plus faible, mais il a paru sans intérêt de la calculer, étant donné l'imprécision de deux des trois dosages.

Au total, l'existence de deux pentes distinctes paraît bien établie, et ceci dans les deux types de mouches, stabilisées ou non. Toutefois, l'analyse statistique des résultats fait apparaître entre eux une différence dans la réponse au traitement thermique.

3. Différences observées dans la cinétique du phénomène, selon le type de mouches chauffées.

Pour comparer les résultats obtenus chez les mouches stabilisées et non-stabilisées, j'ai calculé, dans les deux cas, la moyenne pondérée de chacune des deux pentes observées. Bien entendu, je n'ai pris en considération que les pentes connues avec une précision suffisante. J'ai donc systématiquement laissé de côté toutes celles qui ont été calculées avec un nombre de degrés de liberté inférieur à deux. Je n'ai pas retenu non plus la courbe b (non-stabilisées) dont les deux pentes très voisines pourraient laisser un doute sur leur existence réelle (1).

---

(1) Chacune des pentes retenues pour calculer les moyennes pondérées, est marquée d'un astérique sur les tableaux IV et V.

La moyenne pondérée $\bar{b}$ est obtenue d'après la formule :

$$\bar{b} = \frac{w_1 b_1 + w_2 b_2 + w_3 b_3 + \ldots}{\sum w}$$

dans laquelle w est le poids affecté à chacune des pentes et qui est égal à l'inverse de la variance de celle-ci $w_1 = \frac{1}{\bar{e}^2_{b_1}}$. L'erreur $\bar{e}$ sur la moyenne pondérée est alors telle que $\frac{1}{\bar{e}^2} = \sum w$.

Les valeurs obtenues pour les chauffages de mouches stabilisées sont :

$\bar{b}_1 = - 0,55 \pm 0,03$ $\quad \bar{b}_2 = - 0,07 \pm 0,004.$

Pour les mouches non-stabilisées, les chiffres correspondants sont :

$\bar{b}_1 = - 0,26 \pm 0,01$ $\quad \bar{b}_2 = - 0,07 \pm 0,005.$

Il existe donc une différence dans la cinétique de la disparition du virus mûr à 30° C selon le type de mouches chauffées. On voit que, si les deuxièmes pentes sont identiques dans les deux cas, la première pente est environ deux fois plus forte chez les stabilisées que chez les non-stabilisées.

La comparaison statistique des moyennes pondérées des premières pentes montre que leur différence est nettement significative. On trouve en effet pour le t de STUDENT une valeur de 5,80. Avec les vingt et un degrés de liberté, dont nous disposons, cette valeur est hautement significative ($p < 10^{-7}$).

B. CHAUFFAGES INTERVENANT AVANT L'ETABLISSEMENT DU "PLATEAU".

Les expériences ont comporté des traitements thermiques appliqués à deux stades différents de la vie de la mouche. Les uns concernent des pupes (mouches stabilisées ou non), les autres des imagos (mouches s.v. inoculées avec un extrait virulent).

Quatre expériences ont été réalisées qui comportaient un chauffage appliqué au début de la période nymphale et se prolongeant au moins jusqu'à l'émergence imaginale. L'effet de ce chauffage sur le rendement était déterminé en comparant les rendements obtenus pour un ou plusieurs broyats collectifs d'imagos

prélevées dans le lot chauffé à ceux des broyats de Drosophiles du lot témoin n'ayant pas subi de chauffage. On sait (figure 1, p.14 d'après N. PLUS, 1954, loc. cit.) que le rendement maximum en virus mûr semble être atteint chez les Drosophiles héréditairement sensibles au cours de la période nymphale, que les mouches aient reçu le virus de leur père ou de leur mère. Le rendement des jeunes nymphes est donc voisin de celui des jeunes imagos. La différence entre les dosages d'imagos prises dans les deux lots doit donc donner une approximation valable de l'effet du chauffage nymphal sur le rendement individuel moyen. Deux des quatre expériences ont été réalisées simultanément sur des mouches stabilisées et non-stabilisées. Le matériel utilisé a été décrit au paragraphe A (expériences 1 et 2, p.16 et 22). Les résultats observés sont les suivants :

En ce qui concerne le premier type de mouches, le rendement maximum évalué à partir de seize broyats collectifs de mouches témoin, maintenues à 20° C pendant toute la durée de l'expérience, est : $\bar{x} = 4,14 \pm 0,08$ ($\nu = 15$). Le rendement des mouches ayant subi un chauffage pendant la période nymphale (trois jours à 30° C) évalué à partir d'un broyat de très jeunes imagos s'est révélé être nul. Le lot, dont cet échantillon a été tiré, fut conservé à 30° C et les broyats collectifs effectués quatre, huit, onze et quatorze jours après l'émergence imaginale ont eux aussi abouti à un dosage nul.

La même expérience, réalisée sur des mouches non-stabilisées (cf. expérience 2, p. 22), a donné pour le rendement des imagos témoin : $\bar{x} = 4,39 \pm 0,10$ ($\nu = 13$). Le rendement des jeunes imagos ayant subi un chauffage pendant la période nymphale s'est révélé être nul. Il est également nul pour les broyats effectués quatre, huit, onze et quatorze jours après l'émergence imaginale, dans ce même lot maintenu à 30° C pendant toute cette période.

Dans une troisième expérience réalisée sur des mouches stabilisées, j'ai

obtenu les chiffres suivants :

-rendement moyen des mouches du lot témoin : $\bar{x} = 4,05 \pm 0,07$ ($\nu = 26$),

-rendement des mouches chauffées à l'émergence : nul. Le rendement était toujours nul trois jours et six jours après l'émergence, le lot étant maintenu à 30° C.

La dernière expérience de ce type réalisée sur des non-stabilisées a donné les résultats suivants :

- rendement moyen du lot témoin : $\bar{x} = 4,18 \pm 0,08$ ($\nu = 5$),
- rendement des mouches chauffées, à l'émergence (un broyat collectif) : nul.

Les chiffres donnés dans les deux expériences concernant des mouches stabilisées représentent les dosages moyens d'une Drosophile sensible. Pour les deux expériences réalisées sur des mouches non-stabilisées, les chiffres correspondent au dosage moyen d'une Drosophile broyée. Nous savons que le pourcentage de sensibles dans les descendants du croisement ♀ s.v. x ♂ stabilisé est toujours inférieur à cent pour cent. Pour avoir le rendement moyen d'une Drosophile sensible non stabilisée, il nous faut donc faire une correction, en tenant compte du pourcentage de sensibles effectivement présentes dans chacun des cas (quarante pour cent dans la deuxième expérience, cinquante six pour cent dans la quatrième).

Les chiffres corrigés nous montrent qu'un chauffage de trois jours, appliqué pendant la vie nymphale, aboutit à un dosage nul pour des Drosophiles qui, élevées à 20° C, présentent les dosages moyens suivants :

1) - $4,14 \pm 0,08$ (mouches stabilisées)

2) - $4,43 \pm 0,10$ (mouches non-stabilisées)

3) - $4,05 \pm 0,07$ (mouches stabilisées)

4) - $4,80 \pm 0,08$ (mouches non-stabilisées).

Les rendements des mouches prises comme témoin devant être très proches de ceux des jeunes nymphes élevées à 20° C, on voit que le chauffage nymphal a une très

grande efficacité. En trois jours, il aboutit à une baisse de rendement d'environ quatre unités logarithmiques.

Le protocole de ces expériences ne nous permet pas de suivre l'évolution du rendement à 30° C et je n'ai donc pas pu calculer les pentes comme je l'avais fait pour les chauffages imaginaux. Toutefois, une grossière estimation basée sur la baisse de quatre unités logarithmiques en trois jours de chauffage nous conduirait à une pente égale à - 1,33. Les premières pentes correspondant aux chauffages imaginaux des mouches stabilisées et non stabilisées étaient on s'en souvient : $\bar{b}_1 = - 0,55$ et $\bar{b}_1 = - 0,26$. Ces chiffres très différents donnent une idée de l'action particulièrement spectaculaire du traitement thermique lorsqu'il est appliqué pendant la période nymphale.

Une différence éventuelle dans la cinétique du phénomène, en relation avec le type de mouches sensibles utilisées, ne peut pas être mise en évidence par ce type d'expérience, ce qui n'exclut pas bien entendu son existence possible.

J'ai réalisé une autre expérience dans laquelle les chauffages intervenaient également avant l'établissement du plateau final. Il s'agit de Drosophiles inoculées avec un extrait virulent, les chauffages intervenant par conséquent au stade imaginal. Le protocole de cette expérience est le suivant. Un lot de mouches inoculées avec un extrait de virus σ est placé à 20° C. Chaque jour des prélèvements d'échantillons sont effectués et les mouches broyées pour suivre le rendement moyen des mouches dans le temps. D'autre part, le lendemain de l'injection, puis chacun des jours suivants, un échantillon d'une trentaine de mouches est placé à 30° C pour une durée de quarante-huit heures. Au bout de ce laps de temps, chacun de ces lots est broyé et le rendement des mouches déterminé.

Le tableau VI rassemble les résultats des dosages obtenus pour les échantillons témoin et les échantillons chauffés. On voit que le "plateau" est atteint

TABLEAU VI. Action de chauffages de quarante-huit heures sur le rendement de Drosophiles inoculées avec un extrait virulent, selon la période d'application de ceux-ci.

Rendements moyens / Temps passé à 20°C	Lot témoin (en log.)	Lots chauffés 48 h. (en log)	Baisse du rendement en logarithme si accumulation virus mûr est: stoppée à 30°C	Baisse du rendement en logarithme si accumulation virus mûr est: non stoppée à 30° C
1 jour	0,00	0,00	-	-
2 jours	1,32	(0,47)	(0,85)	(2,64)
3 "	1,79	1,00	0,79	3,27
4 "	3,11	1,00	2,11	3,22
5 "	4,27	1,91	2,36	3,15
6 "	4,22	2,78	1,44	-
7 "	5,06	3,15	1,91	2,03
8 "	-	3,08	-	2,27
9 "	5,18	4,40	0,78	
10 "	5,35	3,95	1,40	
11 "	5,79	-	-	
12 "	5,31	4,71	0,60	
14 "	5,75	4,39	1,36	
15 "	-	4,81	-	
17 "	5,96	4,50	1,46	
18 "	4,55	-	-	
19 "	-	4,58	-	
21 "	5,68	-	-	
23 "	5,96	-	-	
24 "	5,75	-	-	

à 20° C, neuf ou dix jours après l'inoculation. Nous pouvons donc comparer l'effet du traitement thermique suivant qu'il est appliqué avant ou après l'établissement du "plateau". A priori, le chauffage intervenant pendant la phase d'accumulation du virus mûr peut avoir deux effets. Le premier concerne le virus mûr déjà formé, nous savons que celui-ci est inactivé à 30° C. Le second concerne le processus d'accumulation du virus mûr. Celui-ci pourrait être stoppé à 30° C. Dans cette éventualité, l'effet du traitement thermique devra être étudié en comparant les dosages de chacun des échantillons témoin avec ceux des échantillons ayant passé le même nombre de jours à 20° C avant d'être chauffés. Si le processus d'accumulation n'est pas stoppé par la chaleur, les dosages des lots chauffés quarante-huit heures devront être comparés à ceux des lots témoin ayant passé quarante-huit heures de plus à 20° C. (En fait les processus biologiques étant accélérés par une augmentation de la température, il serait peut-être même plus logique de comparer les lots chauffés à des lots témoin plus âgés). Nous ne pouvons évidemment pas savoir à priori laquelle de ces éventualités correspond à la véritable situation.

On voit, tout de suite, que l'action du traitement thermique appliqué avant l'établissement du plateau, s'exprime de manière très différente, selon que l'on admet l'une ou l'autre des deux éventualités envisagées. En laissant de côté les rendements inférieurs à 1,0 en unités logarithmiques, on obtient, pour la diminution moyenne du rendement au cours de quarante-huit heures de chauffage appliqué avant le neuvième jour :

$\bar{d}_1 = - 1,72 \pm 0,28$ dans l'hypothèse où le processus d'accumulation du virus est stoppé à 30° C

$\bar{d}_2 = - 2,79 \pm 0,26$ dans la seconde éventualité.

(Bien entendu, il n'est pas exclu que la situation réelle soit intermédiaire entre les deux éventualités décrites). Ces valeurs sont à comparer avec la baisse rela-

tive à un chauffage de même durée intervenant après l'établissement du plateau : $\bar{d}_3 = - 1,12 \pm 0,18$.

Quoique la baisse de rendement $\bar{d}_1$ soit plus forte que $\bar{d}_3$, elle n'en est pas significativement différente ($t = 1,82$, $\nu = 8$). Par contre la comparaison statistique de $\bar{d}_2$ et $\bar{d}_3$ montre que la différence est significative ($t = 5,39$ pour $\nu = 8$).

Les différences $\bar{d}_1$, $\bar{d}_2$, $\bar{d}_3$ concernant des chauffages de deux jours, il s'ensuit que les pentes des droites traduisant ces diminutions de rendement sont respectivement $b_1 = - 0,86$, $b_2 = -1,39$, $b_3 = - 0,56$. On voit que la pente b_3 est beaucoup plus forte que la "première pente" moyenne calculée pour l'ensemble des expériences réalisées sur des mouches non-stabilisées après l'établissement du plateau ($\bar{b}_1 = - 0,26$, Chap. II, p. 32). Toutefois, si elle se place parmi les plus fortes pentes de ce type observées, elle ne doit pas être considérée comme aberrante. Notons aussi que la pente $b_2 = - 1,39$ est tout à fait comparable à celle qui correspond aux traitements thermiques intervenant pendant la période nymphale. ($b = - 1,33$, Chap. II, p.35).

C. DISCUSSION.

La disparition du virus σ mûr à 30° C suit une loi exponentielle. En effet, nous avons vu que dans le système de coordonnées choisi (logarithme du nombre de particules par mouche/temps) les points expérimentaux se placent sur des droites. Ceci signifie que dans chaque unité de temps, chaque particule survivante a une même probabilité d'être détruite. Cette cinétique dite "à un coup" est très répandue chez les microorganismes (1).

---

(1) Elle est à l'origine de la théorie de la cible (LEA, 1946).

Différents auteurs ont étudié l'inactivation du virus, en utilisant les rayonnements, les produits chimiques, la chaleur. Le virus de la mosaïque du tabac est un des mieux connus à ce sujet. Les travaux de M.A. LAUFFER et W.C. PRICE (1941) ont montré que l'inactivation de ce virus par la chaleur obéissait à une cinétique à un coup. M.A. LAUFFER (1958) a obtenu les mêmes résultats en soumettant les extraits à l'action des rayons X et de l'aldéhyde formique. On retrouve la même évolution pour l'inactivation par la chaleur du phage T5 E. coli (M.H. ADAMS, 1949 ; R.A.C. FOSTER, F.H. JOHNSTON et V.K. MILLER, 1949) et pour quatre phages étudiés par POLLARD et REAUME (1951). Plusieurs virus de plantes étudiés par PRICE ont montré le même type de courbe d'inactivation par la chaleur[(1)]. On voit donc que le type d'inactivation observé est tout à fait classique. Notons tout de même que, dans les cas cités plus haut, il s'agit d'inactivation d'extraits virulents in vitro et non pas de virus à l'intérieur de son hôte.

Le vieillissement du virus ne peut être invoqué dans aucun des cas cités, ni dans celui de σ° en raison même du type de cinétique observée. Il nous faut donc faire d'autres hypothèses pouvant rendre compte de l'évolution du rendement en virus mûr des mouches sensibles, chauffées à 30° C. Je ne ferai ici que les énoncer, me réservant de les discuter au chapitre V, après avoir décrit quelle est l'évolution à 20° C, du rendement de mouches préalablement chauffées (Chapitre III).

Les hypothèses que l'on peut formuler sont liées à l'interprétation du "plateau". Tout d'abord, celui-ci peut traduire une "récolte unique" de virus. Celle-ci une fois fournie, les particules resteraient présentes dans la mouche tout au long de la vie de celle-ci, à 20° C. La baisse du rendement observée à

---

(1) Cité par POLLARD (1953). The Physics of Viruses, Academic Press.

30° C résulterait de l'action létale du chauffage sur les particules de virus mûr. Le'plateau"pourrait résulter également d'un équilibre entre une production et une destruction continuelles de virus mûr. La température agirait sur les vitesses respectives de ces deux processus: la chaleur pouvant ralentir ou même stopper totalement la production de particules nouvelles et accélérer la destruction du virus mûr déjà formé. Enfin, on pourrait imaginer que la Drosophile fournit bien une récolte unique en ce qui concerne la fraction nucléique des particules virales, laquelle serait présente dès l'établissement du "plateau". Celui-ci pourrait malgré tout résulter d'un équilibre dynamique entre deux types de particules virales :les unes complètes, infectieuses, les autres incomplètes, non infectieuses. L'élévation de température, en rompant l'équilibre établi à 20° C, ferait passer d'un état à l'autre les particules, le processus étant réversible.

Dans les trois hypothèses qui viennent d'être envisagées, les particules doivent disparaître tout au moins au début, selon une cinétique exponentielle. La simple observation de cette cinétique n'est donc pas discriminante et seule l'étude de l'évolution du rendement, lors du retour à 20° C des mouches chauffées, pourra éventuellement nous permettre de choisir.

L'existence des deux pentes différentes semble indiquer une hétérogénéité dans la population virale soumise au chauffage. Dans une première hypothèse, on peut imaginer que les particules thermolabiles et thermorésistantes correspondent à deux stades successifs de l'évolution du virus. La population de particules virales serait d'abord constituée par du virus thermosensible; puis, apparaîtraient les particules thermorésistantes, la proportion de celles-ci augmentant ensuite pour représenter finalement la totalité de la population. En conséquence, on devrait évidemment observer une cinétique différente suivant le moment où est appliqué le traitement thermique ; l'importance respective des deux segments de droite (à pentes forte

et faible) étant liée aux proportions des deux types de particules présentes. Ainsi, juste avant l'établissement du plateau, la grande majorité des particules étant encore au stade thermosensible, le segment de pente forte doit être très important et celui de pente faible peu ou pas apparent. Un traitement thermique appliqué après l'établissement du plateau se traduira par une cinétique à deux pentes. Mais, au fur et à mesure que les chauffages débutent plus tard, l'importance du segment de pente forte devrait diminuer. Les chauffages très tardifs se traduiraient finalement par une seule droite de pente faible.

Or, nous avons vu que les chauffages intervenant avant l'établissement du plateau provoquent bien une baisse du rendement en virus, importante et rapide. Le chauffage nymphal aboutit en trois jours à un dosage nul chez les mouches stabilisées et non stabilisées (p. 33 et 34). De la même manière, les traitements thermiques, appliqués à des imagos inoculées avec un extrait virulent et intervenant avant l'établissement du plateau, semblent provoquer une baisse du rendement très rapide, au moins au cours des deux premiers jours de chauffage (p.38). Ces résultats ne sont cependant pas exactement ceux auxquels on doit s'attendre dans l'hypothèse envisagée plus haut. En effet, on devrait observer, dans ces deux cas, un segment de droite à pente forte particulièrement long et non pas un segment de droite à pente plus forte que celles qui jouent dans les chauffages intervenant après l'établissement du plateau. Je reviendrai sur l'interprétation de ces pentes très fortes. Quant à la cinétique des chauffages tardifs, nous avons vu qu'elle ne cadre pas du tout avec l'hypothèse énoncée, puisque ceux-ci se trasuisent toujours, comme les chauffages plus précoces, par une cinétique à deux pentes[1]. L'hypothèse des deux stades successifs du virus mûr apparaît donc comme

---

(1) Les quelques exceptions à cette règle ont été interprétées comme étant dues à l'état physiologique des Drosophiles et ne sont nullement liées à l'évolution du virus σ dans la mouche (Chap. II, p.28).

assez peu fondée.

Force nous est donc d'admettre que les deux types de virus, caractérisés par leur thermosensibilité différente, sont présents dès l'établissement du plateau et persistent jusqu'à la mort de la Drosophile.

J'ai pu montrer que la différence entre ces deux virus n'est pas génétique en réalisant l'expérience suivante. Un grand nombre de mouches s.v. sont inoculées avec un extrait virulent et placées à 20° C. Des échantillons sont prélevés trois fois par semaine pour faire des dosages. Au bout de treize jours, c'est-à-dire une fois le "plateau" atteint, une partie des Drosophiles est placée à 30° C. L'évolution du rendement de ces mouches est suivie par une série de broya collectifs effectués journellement. Au cours de ce chauffage, deux broyats de deux cents mouches chacun sont effectués ; le premier au bout de trois jours (extrait A), le second après treize jours passés à 30° C (extrait B). Ces dates sont choisies de manière à ce que les deux extraits représentent l'un la population mixte initiale, l'autre la population résiduelle ne contenant plus que le type thermostable. Chacun d'eux est injecté à de nombreuses mouches s.v., les deux lots de mouches inoculées étant destinés à subir exactement le même traitement thermique. Le protocole suivi dans les deux cas est exactement celui décrit au début de ce paragraphe : inoculation des Drosophiles, séjour à 20° C pendant treize jours, puis chauffage à 30° C.

Dans l'hypothèse : différence de thermosensibilité de nature génétique, on pouvait s'attendre à ce que la réponse au traitement thermique soit différente dans les deux lots de Drosophiles inoculées. Dans le cas de l'extrait A, l'inactivation devrait présenter la cinétique à deux pentes déjà décrite. Les mouches inoculées avec l'extrait B pouvant au contraire donner lieu à une seule droite, de pente faible, caractéristique du virus thermostable. Les résultats expérimentaux

ont montré que dans l'un et l'autre cas, l'évolution du rendement est la même et présente la succession caractéristique des deux segments de droite de pentes forte ($b_1A = - 0,38 \pm 0,05$, $b_1B = - 0,37 \pm 0,06$) et faible. La différence de thermosensibilité, qui distingue les deux virus présents dans les mouches sensibles, n'est donc certainement pas génétique. Il faut, par conséquent, qu'elle soit une conséquence de la relation virus-hôte.

Ces deux hypothèses concernant l'interprétation possible de la succession des deux droites de pentes forte, puis faible, observées au cours de tous les chauffages de Drosophiles sensibles, doivent donc être écartées. Le problème sera repris au chapitre V, dans le cadre de la discussion des hypothèses susceptibles de rendre compte de l'ensemble des faits concernant l'action de la température sur le rendement des mouches porteuses de virus σ.

-----ooOOoo-----

CHAPITRE III.

EVOLUTION A 20°C DU RENDEMENT EN VIRUS MUR DE DROSOPHILES PREALABLEMENT CHAUFFEES.

A. DROSOPHILES AYANT SUBI UN TRAITEMENT THERMIQUE DEBUTANT APRES L'ETABLISSEMENT DU PLATEAU.

1. Description de trois expériences type.

Expérience 1 portant sur des mouches stabilisées. Plusieurs expériences ont été réalisées sur ce type de mouches, dans lesquelles les chauffages étaient plus ou moins prolongés et plus ou moins tardifs. Une seule d'entre elles sera décrite. Elle concerne l'évolution à 20° C de Drosophiles ayant subi un chauffage préalable très long (dix-neuf jours), leur rendement ayant atteint de ce fait un niveau très bas. Les précautions habituelles ont été prises pour s'assurer que toutes les mouches étaient bien sensibles et stabilisées. L'expérience comportant plusieurs lots de mouches destinés à subir des traitements différents, il a fallu utiliser les descendants contemporains de groupes de progéniteurs différents. Afin d'éviter une hétérogénéité éventuelle imputable aux lots de progéniteurs, toutes les Drosophiles ont été mélangées avant le début de l'expérience. Le protocole, pour le lot qui nous intéresse, fut le suivant. Les mouches âgées de trois jours environ, sont placées à 30° C pour une durée de dix-neuf jours, au cours desquels le dosage est suivi par des broyats effectués tous les quatre ou cinq jours. Après cette période les Drosophiles sont replacées à 20° C, où leur rendement est suivi de la même manière. Le tableau VII montre les rendements observés au cours du

chauffage (B) et après le retour des mouches à 20° C (C). La colonne (A) contient les dosages des mouches "témoin" maintenues à 20° C pendant toute la durée de l'expérience. Ces chiffres, ainsi que la figure 5, p. 47 qui indique l'évolution des dosages dans le système de coordonnées habituel, montrent que le rendement des Drosophiles, fortement déprimé par le chauffage à 30° C, augmente ensuite très rapidement à 20° C pour atteindre un niveau proche de celui qui caractérisait les mouches avant le début du traitement thermique.

TABLEAU VII. Evolution du rendement en virus mûr de Drosophiles stabilisées (broyats collectifs) . A à 20° C (témoin) , B à 30° C , C à 20° C après la fin du chauffage.

A		B		C	
Nombre de jours passés à 20° C	Rendement (en log.)	Nombre de jours passés à 30° C	Rendement (en log.)	Nombre de jours passés à 20°C après chauffage	Rendement (en log.)
0	4,82	5	2,60		
6	4,36	9	2,08		
13	3,79	12	1,48		
29	3,30	19	[1,04]	0	(1,04)
33	4,49			4	3,83
34	3,63			7	4,00
				8	4,64
				9	3,83

Le chiffre encadré, dans la colonne B, correspond au rendement des mouches broyées après le dernier jour de chauffage (= 0 jour à 20° C, colonne C).

Parallèlement à ces broyats collectifs, des Drosophiles ont été broyées individuellement au cours du chauffage, puis à 20° C. Le tableau VIII rassemble les chiffres relatifs à ces dosages individuels. Malgré une assez large variation individuelle, ces résultats suivent bien entendu la même évolution que les dosages obtenus par broyats collectifs. Ils montrent en outre que le rendement des femelles est en moyenne supérieur à celui des mâles. Ceux-ci étant pratiquement les seuls à être représentés dans le lot C, l'évolution des dosages est indiquée plus complètement et d'une manière plus précise par l'étude des seuls broyats de mâles.

Considérons les chiffres concernant les rendements de Drosophiles mâles, nous voyons que, sur les sept broyats effectués après douze et dix-neuf jours de chauffage, six correspondent à un dosage nul, un seul à un dosage faible de 1,32 en unités logarithmiques. Six autres broyats réalisés après vingt jours de chauffage ont montré que les six mâles étaient dépourvus de virus. On peut donc considérer que la presque totalité des mouches mâles ne comportait pas de virus extractible lors de leur retour à la température de 20° C (après dix-neuf jours passés à 30° C). En étudiant les valeurs trouvées pour les vingt-huit mâles broyés individuellement quatre à onze jours après leur retour à 20° C, on voit qu'aucune d'elles n'est nulle et que le rendement atteint très rapidement un niveau auquel il se maintient par la suite. La "guérison" provoquée par le chauffage est donc toujours provisoire, puisqu'aucun dosage ne reste nul quand les conditions de température redeviennent normales. Notons que, si nous avons laissé de côté les dosages des femelles broyées, en raison de leur petit nombre, le phénomène y est qualitativement le même, puisque l'on observe la même baisse de rendement à 30° C et la réapparition régulière de virus extractible dès retour à 20° C.

Expérience 2 réalisée sur des mouches non-stabilisées issues du croise-

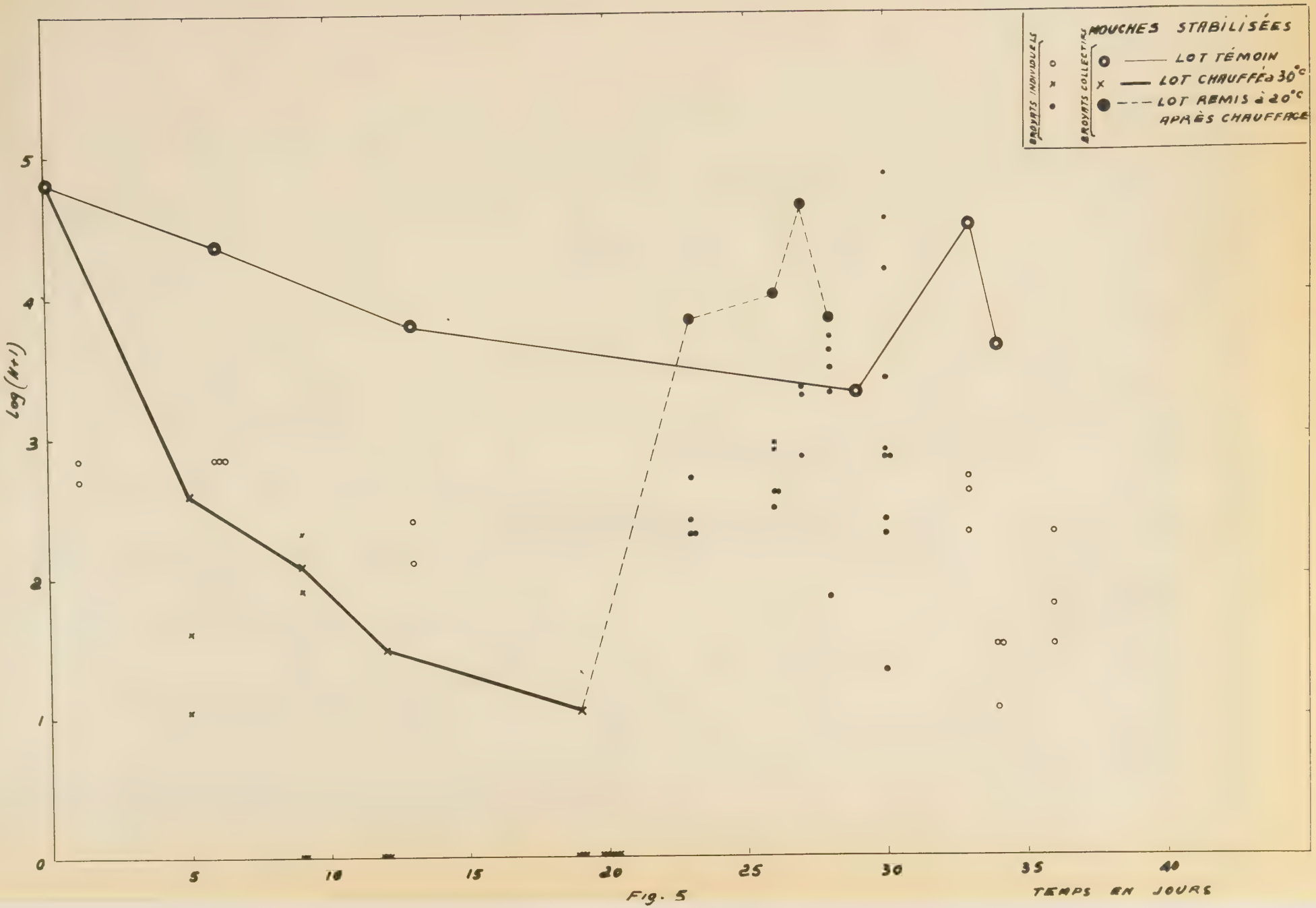

MOUCHES STABILISÉES
LOT TÉMOIN
LOT CHAUFFÉ à 30°C
LOT REMIS à 20°C APRÈS CHAUFFAGE
BROYATS INDIVIDUELS
BROYATS COLLECTIFS
Log (N+1)
0
1
2
3
4
5
5
10
15
20
25
30
35
40
TEMPS EN JOURS

Fig. 5

TABLEAU VIII. Evolution du rendement en virus mûr de Drosophiles sensibles stabilisées (broyats individuels, A à 20° C (témoin) ; B à 30° C ; C à 20° C après un chauffage de dix-neuf jours).

A			B			C		
Nombre de jours passés à 20°C	Rendement en log. ♀	Rendement en log. ♂	Nombre de jours passés à 30°C	Rendement en log. ♀	Rendement en log. ♂	Nombre de jours passés à 20°C après chauffage	Rendement en log. ♀	Rendement en log. ♂
0	4,21		0	4,21				
"	4,80		"	4,80				
"	4,91		"	4,91				
"	4,71		"	4,71				
1	4,56	2,85	5	2,90	1,04			
"	2,85	2,70	"	2,18	1,61			
"	5,10		"	2,65				
6	3,57	2,85	"	2,90				
"	2,85	2,85	9	2,90	1,91			
"	3,36	2,85	"	2,40	2,32			
13	2,70	2,40	"	2,04	0,00			
"	3,86	2,10	"	0,00	0,00			
"	2,85		12	1,04	0,00			
33	3,98	2,30	"	0,00	0,00			
"	4,51	2,70	"	0,00	0,00			
"		2,60	19	1,32	1,32			
34	2,70	1,04	"		0,00			
"	2,78	1,49	"		0,00			
"	2,85	1,49	"		0,00			
36	2,78	1,49	20		0,00	4	2,40	2,30
"	2,85	1,78	"		0,00	"		2,70
"	2,90	2,30	"		0,00	"		2,40
			"		0,00	"		2,30
			"		0,00	7		2,95
			"		0,00	"		2,60
						"		2,48
						"		2,90
						"		2,60
						8	3,79	4,27
						"		3,34
						"		3,28
						"		2,85
						9		1,85
						"		2,60
						"		2,30
						"		2,48
						"		2,70
						11		2,40
						"		3,85
						"		3,54
						"		3,18
						"		2,30
						"		2,85
						"		1,32
						"		2,40
						"		2,90
						"		2,85

ment ♀ s.v. x ♂ stabilisé. Le rendement des Drosophiles est suivi par des broyats collectifs réalisés à partir d'une vingtaine de mouches. L'expérience comportait trois lots : mouches conservées à 20° C (A), mouches chauffées à 30° C (B), mouches replacées à 20° C après dix jours passés à 30° C. Le tableau IX et la figure 6 (p. 51) réunissent l'ensemble des résultats expérimentaux. On voit que l'on retrouve dans ce cas la même évolution que dans l'expérience[1] décrite plus haut. Le rendement qui a baissé au cours du séjour des Drosophiles à 30° C, augmente rapidement dès que celles-ci sont replacées à 20° C. Il reste stable ensuite, au cours du temps.

Expérience 3. Dans le deuxième type de mouches non-stabilisées (c'est-à-dire les mouches ayant reçu le virus ♂ par inoculation), on observe exactement le même type d'évolution. Ceci est mis en évidence par les résultats groupés dans le tableau X et la figure 7 (p.53). Les colonnes A, B, C représentent respectivement, comme dans les deux premières expériences décrites, les rendements des Drosophiles témoin, des Drosophiles chauffées et des Drosophiles remises à 20° C, après un chauffage de dix-huit jours. Le chauffage a commencé lorsque le rendement maximum des mouches était atteint, ainsi qu'il apparaît sur le graphique (figure 7). La baisse du rendement observée à 30° C est suivie d'une remontée rapide de celui-ci lorsque les Drosophiles sont replacées à 20° C. Le rendement se maintient ensuite à un niveau élevé.

2. Généralité du phénomène.

Les expériences que nous venons d'étudier ont été choisies parmi de nombreuses autres pour lesquelles, dans tous les cas, les faits expérimentaux étaient semblables. Après une baisse du rendement en virus mûr, provoquée par un chauffage à 30° C, on observe toujours dès que les mouches sont replacées à 20° C une remontée rapide de ce rendement, qui se fixe rapidement à un nouveau "plateau".

TABLEAU IX. Evolution du rendement en virus mûr de Drosophiles non-stabilisées issues du croisement ♀ s.v. x ♂ stabilisé (broyats collectifs). A à 20° C, témoin ; B à 30° C ; C à 20° C après chauffage de dix jours.

A		B		C	
Nombre de jours passés à 20° C	Rendement (en log.)	Nombre de jours passés à 30° C	Rendement (en log.)	Nombre de jours passés à 20°C après chauffage	Rendement (en log.)
0	4,32	0	4,32		
1	4,36	1	3,92		
2	4,43	2	4,05		
5	4,03	5	3,52		
9	3,71	7	3,08		
12	3,64	9	2,78		
16	3,66	12	2,60	0	# (2,70)
19	3,73	13	1,78	2	3,77
23	3,85	14	2,30	3	2,81
26	3,41	16	2,18	4	3,36
29	3,46	19	2,18	5	3,51
33	3,38	23	1,88	12	3,46
36	3,44	26	1,32	15	3,45
37	3,46	29	0,00		
40	3,44	33	0,00		
41	3,80				
42	3,52				
54	3,44				

Le trait figurant dans la colonne B correspond au rendement atteint par les mouches chauffées, au moment de leur retour à 20° C (= 0 jour à 20° C, colonne C).

MOUCHES NON STABILISÉES
LOT TÉMOIN
LOT CHAUFFÉ à 30°c
LOT REMIS à 20°c
APRÈS CHAUFFAGE
Log (N+1)
TEMPS EN JOURS
A
B
C
C
D
E
0
1
2
3
4
5
5
10
15
20
25
30
35
40
45

Fig. 6

Au total, six expériences de ce type ont été réalisées sur des mouches stabilisées et neuf sur des mouches non-stabilisées. Dans tous ces cas, la remontée du rendement, après retour à la température usuelle, a été observée.

Selon les expériences, cependant, la durée des chauffages était très variable et en conséquence, le rendement en virus atteint par les Drosophiles au moment de leur retour à 20° C présentait lui-même des valeurs très variables. D'autre part, comme cela a été décrit en détail dans le cas de l'expérience 1, p. 46, le phénomène existe à l'échelle individuelle.

donc
On peut/conclure que la remontée du rendement en virus, après retour aux conditions usuelles de température, est un phénomène absolument régulier, qui se produit dans toutes les mouches, quelle qu'ait été la durée du chauffage. Aucun chauffage localisé pendant la période imaginale ne paraît donc capable de conduire à une "guérison définitive".

B. DROSOPHILES AYANT SUBI UN TRAITEMENT THERMIQUE INTERVENU A UN STADE PREIMAGINAL DE LEUR EVOLUTION.

1. Retour à 20° C après un chauffage nymphal.

Six expériences de ce type ont été réalisées : trois sur des mouches stabilisées, trois sur des mouches non-stabilisées (mouches issues du croisement ♀ s.v. x ♂ stabilisé). Selon les cas, les traitement thermiques étaient limités à la période nymphale, les imagos étant placées à 20° C dès l'émergence, ou bien, le chauffage se prolongeait pendant la période imaginale. Tous les broyats effectués, sans exception, ont montré que le rendement en virus des Drosophiles ayant passé la période nymphale à 30° C est nul à l'émergence imaginale. Dans tous les cas, partant de zéro, le rendement des imagos replacées à 20° C s'est élevé jusqu'à un plateau qui restait stable à cette température. Selon les expériences, les rendements étaient suivis par des broyats collectifs ou individuels, ou par des broyats

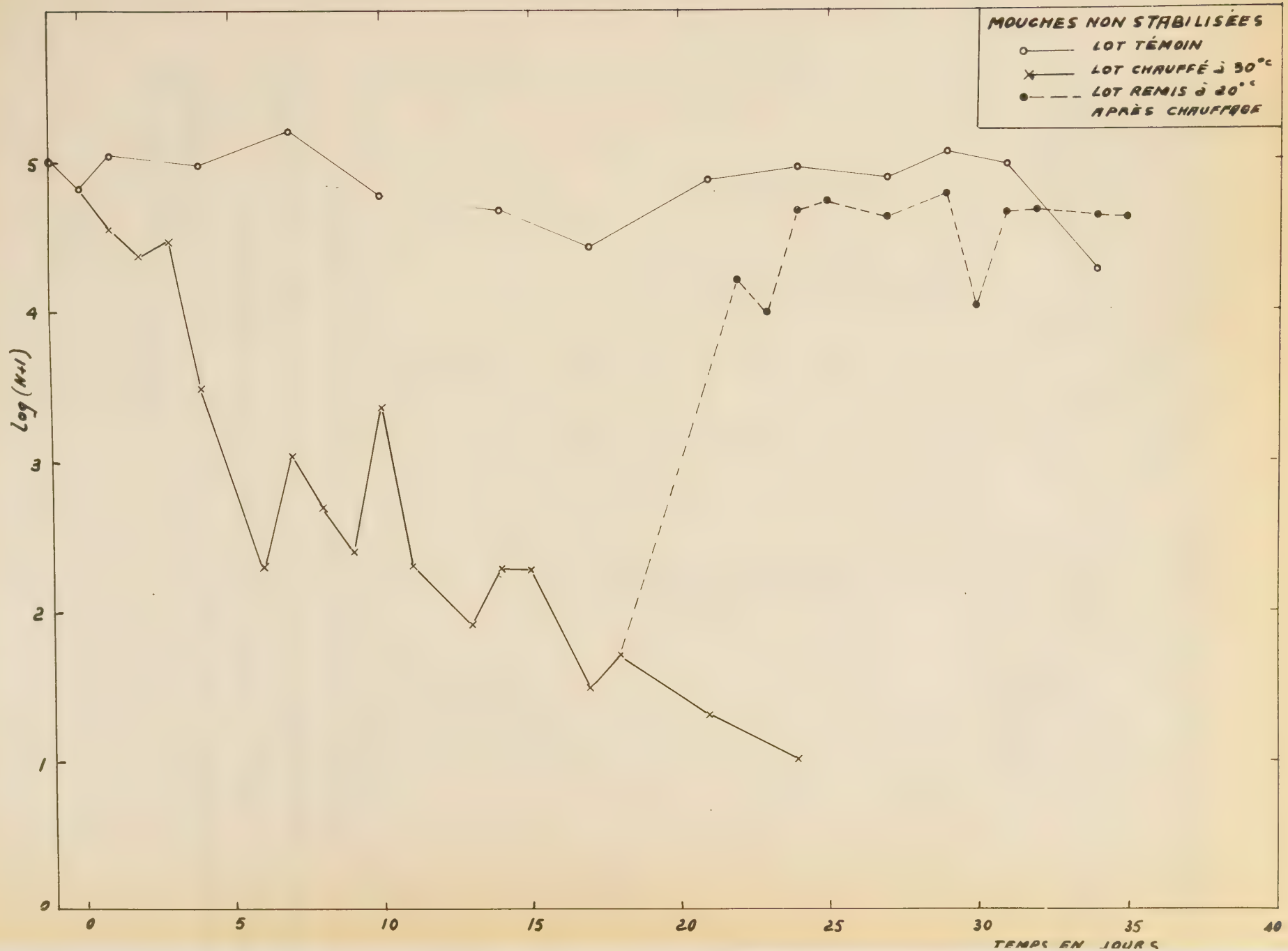

MOUCHES NON STABILISÉES
LOT TÉMOIN
LOT CHAUFFÉ à 30°c
LOT REMIS à 20°c APRÈS CHAUFFAGE
Log (N+1)
0
1
2
3
4
5
0
5
10
15
20
25
30
35
40
TEMPS EN JOURS

TABLEAU X. Evolution du rendement en virus mûr de Drosophiles non-stabilisées inoculées avec un extrait virulent. A à 20° C (témoin); B à 30° C; C à 20° C après un chauffage de dix-huit jours.

A		B		C	
Nombre de jours passés à 20° C	Rendement log. (N + 1)	Nombre de jours passés à 30° C	Rendement log. (N + 1)	Nombre de jours passés à 20°C après chauffage	Rendement log. (N + 1)
(12j) -1	5,01	0	(4,82)		
0	4,82	1	4,55		
1	5,04	2	4,37		
4	4,97	3	4,47		
7	5,19	4	3,49		
10	4,77	6	2,30		
14	4,67	7	3,04		
17	4,43	8	2,70		
21	4,87	9	2,40		
24	4,95	10	3,36		
27	4,88	11	2,30		
29	5,05	13	1,90		
31	4,97	14	2,18		
34	4,27	15	2,18		
		17	1,48		
		18	1,70	0	(1,70)
		21	1,30	4	4,21
		24	1,00	5	3,99
		27	0,00	6	4,67
				7	4,73
				9	4,63
				11	4,79
				12	4,03
				13	4,65
				14	4,68
				16	4,63
				17	4,62

Le chiffre encadré dans la colonne A représente le rendement du broyat effectué le jour même où le lot B a été mis à 30° C (= chauffé 0 jour, colonne B.)

Le chiffre encadré, dans la colonne B, représente le rendement du broyat effectué à la fin du chauffage, au moment du retour à 20° C des mouches chauffées (= 0 jour à 20° C, colonne C).

de ces deux types. Les broyats individuels ont montré que, même après ces chauffages qui font baisser le rendement des mouches jusqu'à zéro, il n'y a jamais de guérison définitive, même à l'échelle individuelle.

La figure 8 (p. 56) a trait à une expérience réalisée sur des mouches non-stabilisées. Elle montre l'évolution à 20° C du rendement d'imagos non-stabilisées ayant subi un chauffage limité à la période nymphale. Cette évolution est comparée à celle du témoin élevé à 20° C. On voit que, dès le retour à 20° C des Drosophiles, leur rendement augmente très rapidement pour atteindre au bout de trois jours un niveau stable. Dans une autre expérience réalisée de la même manière, sur des mouches stabilisées, ce plateau est également atteint dans les mêmes conditions c'est-à-dire après trois jours seulement passés à 20° C. Dans les deux cas, les dosages ont été réalisés à partir de broyats collectifs.

Deux autres expériences ont été réalisées simultanément et suivant le même protocole sur les descendants des croisements réciproques : ♀ stabilisées S14 x ♂ s.v. et ♀ s.v. x ♂ stabilisés S14, c'est-à-dire sur des mouches stabilisées et non-stabilisées aussi comparables que possible. Le matériel utilisé est celui des expériences 1 et 2 décrites au chapitre II, p. 16 et 22 . L'expérience comportait, dans les deux cas, un chauffage commençant à la pupaison et se prolongeant pendant les 14 premiers jours de la vie imaginale. Le rendement était suivi, au cours du chauffage et après le retour à 20° C, par des broyats collectifs. En plus de ceux-ci, des broyats individuels étaient réalisés après la fin de la période de chauffage, afin de s'assurer que le phénomène observé à l'échelle collective ne cachait pas quelques cas éventuels de guérison individuelle. Le tableau XI rassemble les résultats observés pour les broyats collectifs, dans les deux expériences. On voit que l'évolution du rendement est qualitativement semblable chez les deux types de Drosophiles sensibles. Les dosages sont nuls à l'émergence après chauffage nymphal,

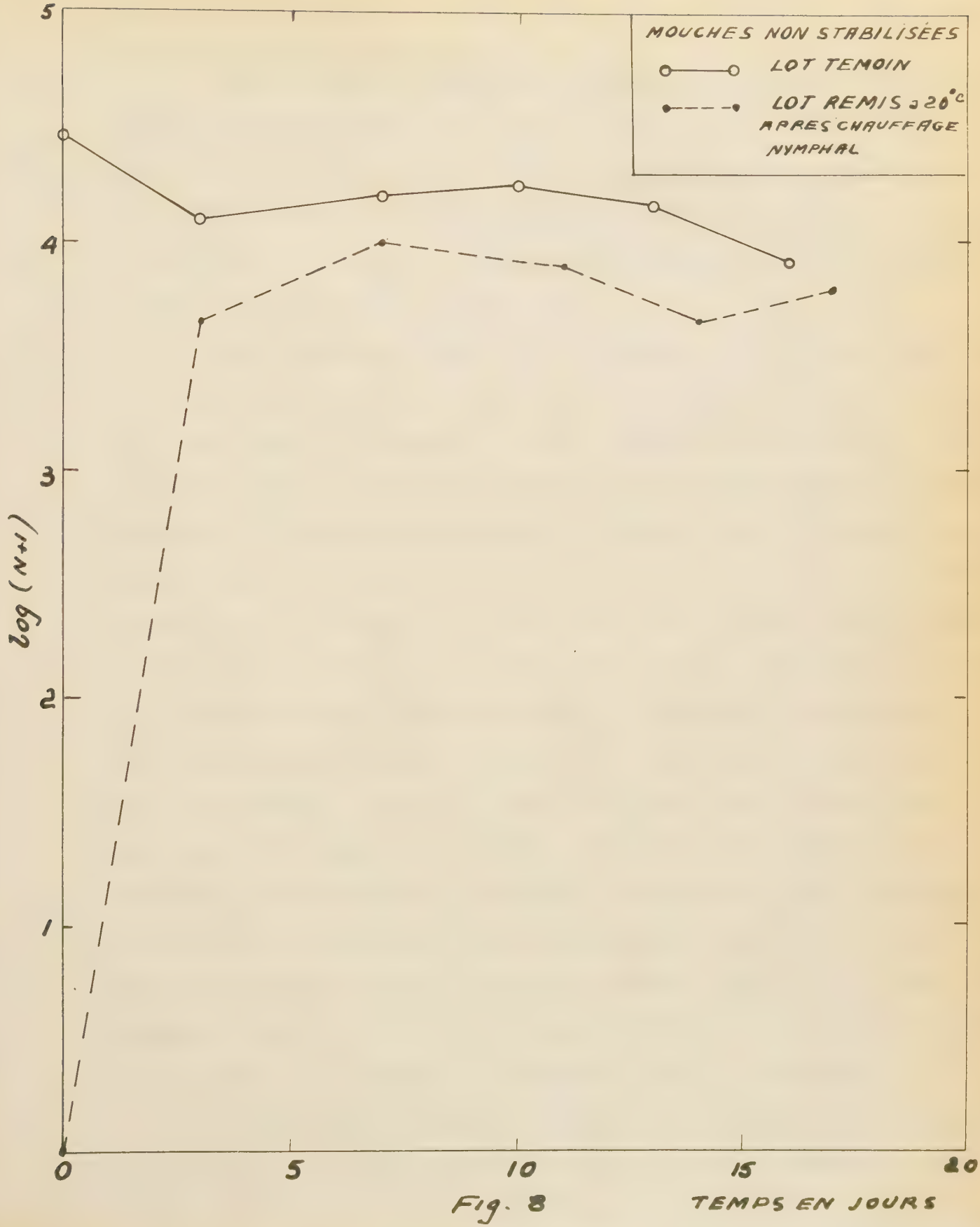


Fig. 8

volution du rendement en virus, à 20° C, d'imagos non-stabilisées (mouches issues du croisement s.v. x ♂ stabilisé), ayant subi un chauffage à 30° C pendant la période nymphale.

ils restent nuls pendant les quatorze jours qui suivent et au cours desquels les mouches sont maintenues à 30° C.

Vingt cinq broyats individuels de mouches stabilisées ont été réalisés après leur retour à 20° C. Les vingt-cinq extraits inoculés chacun à un lot de mouches s.v. ont rendu celles-ci sensibles au CO_2 dans un délai maximum de dix à quinze jours. Compte tenu de la dilution assez forte des extraits, ceci indique que le rendement de toutes les mouches broyées était élevé (de l'ordre de 3,5 à 4 en unités logarithmiques).

Dans l'expérience portant sur les mouches non-stabilisées, trente-cinq broyats individuels ont été réalisés. Parmi les extraits ainsi obtenus, vingt-et-un se sont révélés être dépourvus de virus. Les quatorze autres inoculés à des mouches s.v. les ont toutes rendues sensibles dans un délai inférieur à dix jours, prouvant que les mouches broyées avaient un rendement élevé. Je rappelle que les mouches issues du croisement ♀ s.v. x ♂ stabilisé comportent à la fois des individus sensibles et résistants au CO_2. Dans l'expérience qui nous occupe, le pourcentage de mouches sensibles au CO_2 était environ de trente cinq pour cent, ce qui n'est pas statistiquement différent de 14/35. La proportion de Drosophiles qui se sont avérées être riches en virus dans le lot préalablement chauffé à 20° C, n'est pas différente de celle des mouches qui étaient sensibles au CO_2 dans la série témoin, non chauffée. On peut donc affirmer que, même après quatorze jours consécutifs au cours desquels le rendement s'est montré être nul, en conséquence du chauffage, aucune guérison n'était définitive. Le rendement de chaque mouche individuelle remonte très vite à un niveau élevé après retour à 20° C, ceci naturellement lorsqu'elle n'est pas à l'origine dépourvue de virus, ce qui est le cas d'une fraction de la descendance du croisement ♀ s.v. x ♂ stabilisé.

Les deux autres expériences comportant des traitements thermiques appliqués pendant la période nymphale ont donné des résultats similaires. L'une

TABLEAU XI. Evolution du rendement en virus mûr d'imagos stabilisées et non-stabilisées, au cours d'un chauffage imaginal commencé dès la pupaison et suivi d'un retour à 20° C (broyats collectifs).

Drosophiles stabilisées				Drosophiles non-stabilisées			
Nombre de jours passés à 30°C après l'émergence	Rendement log. (N + 1)	Nombre de jours passés à 20°C après chauffage	Rendement log. (N + 1)	Nombre de jours passés à 30°C après l'émergence	Rendement log. (N + 1)	Nombre de jours passés à 20°C après chauffage	Rendement log. (N + 1
1	0,00			1	0,00		
4	0,00			4	0,00		
8	0,00			8	0,00		
11	0,00			11	0,00		
14	0,00			14	0,00		
		1	0,00			1	0,70
		2	0,60			2	1,00
		3	1,04			3	1,95
		4	1,79			4	1,90
		5	2,30			7	3,29
		7	3,33			8	3,83
		9	3,54			9	3,72
		14	4,48			10	3,83
		17	4,90			14	3,63
		21	4,35			17	4,12
						21	4,87
						24	4,31

d'elles, réalisée avec des mouches stabilisées, a comporté de nombreux broyats individuels. Un lot de mouches a subi un chauffage nymphal se prolongeant après l'émergence imaginale. Les rendements observés dans celui-ci ont été les suivants

17	broyats	individuels	effectués	à			l'émergence	⟶	17	dosages nuls
5	"	"	"	5	jours	après	l'émergence	⟶	5	" "
6	"	"	"	6	"	"	"	⟶	6	" "
6	"	"	"	10	"	"	"	⟶	6	" "
5	"	"	"	18	"	"	"	⟶	5	" "
6	"	"	"	26	"	"	"	⟶	6	" "
							Total :		45	" "

Un deuxième lot était replacé à 20° C dès l'émergence imaginale. Les rendements obtenus dans ce cas sont groupés dans le tableau XII.

La dernière expérience, qui portait sur des mouches non-stabilisées, conduite de la même manière, a montré que, sur quarante broyats individuels effectués après retour à 20° C, dix-huit correspondaient à des mouches riches en virus, vingt-deux à des mouches s.v.. La valence des ♂ calculée sur un grand nombre d'individus était de quarante-six pour cent. On voit que les chiffres cités indiquent à nouveau qu'il n'y a pas de guérison définitive par la chaleur.

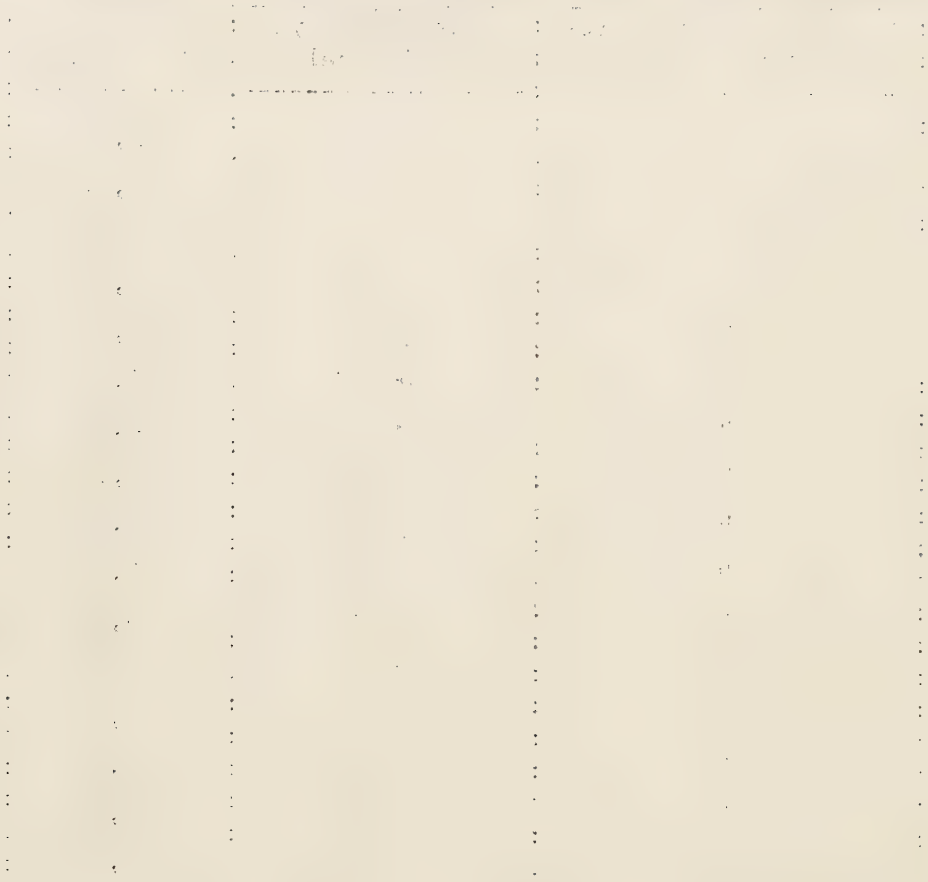
2. Retour à 20° C de Drosophiles ayant subi un traitement thermique appliqué au stade ovogonie et au stade oeuf.

On sait que le rendement en virus mûr des oeufs de mouches stabilisées est faible. Variables d'un oeuf à l'autre, les dosages s'échelonnent entre zéro et cinquante particules, pour des oeufs âgés de une à quatre heures. On trouve exceptionnellement un oeuf riche (mille cinq cents particules, dans un oeuf sur quatre cents environ).[1] Tous les chauffages appliqués à d'autres stades du dévelop-

(1) J.C. BREGLIANO, communication personnelle.

TABLEAU XII. Evolution à 20° C du rendement en virus mûr de mouches stabilisées dont le rendement était nul à la fin d'un chauffage nymphal à 30° C.

Nombre de jours après retour à 20° C	Numéro du broyat individuel	Rendement (en log.)
5	♂ 2	3,89
"	♂ 3	4,61
"	♀ 4	5,07
"	♀ 5	4,70
"	♀ 6	4,64
10	♂ 7	4,99
"	♂ 8	4,97
"	♂ 9	4,73
"	♀ 10	5,35
"	♀ 11	5,28
"	♀ 12	5,33
18	♂ 13	4,06
"	♂ 14	3,96
"	♀ 15	3,34
"	♀ 16	4,09
"	♀ 17	4,21



pement de la Drosophile intéressaient des individus chez lesquels le rendement en virus mûr était élevé, et, nous avons vu qu'aucune guérison définitive n'avait été obtenue. Il était donc intéressant d'appliquer à ce stade des traitements thermiques qui, vu le petit nombre de particules présentes, risquaient, en détruisant toutes les particules de provoquer des guérisons définitives.

Dans une première expérience réalisée sur des mouches stabilisées, les traitements thermiques ont été, selon les lots de mouches : soit appliqués au seul stade ovogonial, soit étendus depuis ce stade jusqu'au stade oeuf. Le reste du développement s'effectuait à 20° C. Dans les deux lots chauffés, ainsi que dans le lot témoin, les dosages étaient déterminés à la suite de broyats collectifs de grosses larves (prépupes) effectués juste avant leur pupaison. Le témoin était constitué par les descendants du croisement de quinze ♀ vierges stabilisées par quinze ♂ s.v. Ces progéniteurs étaient placés à 20° C, dans des bouteilles contenant du milieu au maïs et transvasés chaque jour sur des bouteilles fraîches (série A). Deux autres lots de progéniteurs semblables ont fourni les séries de pontes B et C. Pour obtenir celles-ci, les progéniteurs étaient placés dans des tubes de S101 et maintenus à 30° C pendant trois jours (chauffage ovogonial). A la suite de ce chauffage, les femelles étaient ramenées à 20° C dans des bouteilles d'élevage avec de nouveaux mâles s.v. (les mâles étant stérilisés par un séjour à 30° C). Ces mouches étaient ensuite transvasées chaque jour afin de recueillir leurs pontes journalières comme dans le cas du lot témoin (A). A partir du septième jour [1] suivant le retour à

---

(1) Le temps nécessaire à la transformation d'une ovogonie en oeuf (moment de la ponte) est d'environ douze jours à 20° C (G. BRUN, communication personnelle). Le chauffage accélérant les processus biologiques, on peut compter que l'oeuf pondu, sept jours après la fin du chauffage des mères dont il a été question, a subi un chauffage de trois jours au stade ovogonial.

20° C des progéniteurs, les bouteilles de la série C étaient replacées à 30° C à raison d'une bouteille par jour. Les progéniteurs étaient retirés le lendemain, tandis que la bouteille, contenant les oeufs pondus à 30° C au cours des précédentes vingt-quatre heures, restait encore une journée à cette même température avant d'être replacée à 20° C. Je disposais ainsi de bouteilles d'élevage fournissant des mouches ayant subi selon les cas, un des trois types de traitements suivants : témoin (totalité du développement à 20° C) (A), chauffage de trois jours au stade ovogonie seul (B) et chauffage au stade ovogonie suivi d'une chauffage au stade oeuf (C).

Les prépupes prélevées dans les bouteilles d'élevage sont la plupart du temps chargées de particules de milieu. Pour les en débarrasser, elles sont passées une à une dans du Ringer, puis à l'alcool à 90°, puis sont séchées sur du papier filtre avant d'être broyées par groupe de dix, dans du Ringer. Les dosages sont alors obtenus par le processus habituel employé dans le cas des imagos. Les rendements observés, au cours de l'expérience décrite, figurent dans le tableau XIII. On voit tout de suite que, ni le chauffage ovogonial, ni les chauffages successifs de l'ovogonie et de l'oeuf, n'aboutissent à la guérison définitive. L'expérience ne permet pas de connaître le rendement des individus au moment où cesse le traitement thermique. Par contre, nous voyons qu'après retour à 20° C des individus chauffés, les rendements observés chez les prépupes ayant subi un chauffage antérieur (séries B et C) ne sont nullement inférieurs à ceux des individus non chauffés (A). En première approximation, on peut dire que le rendement des prépupes ayant subi un chauffage au stade ovogonial (B) est comparable à celui des individus non chauffés (A). Par contre, il est évident que le rendement des individus du lot C, qui ont subi à la fois un chauffage au stade ovogonie et au stade oeuf, est supérieur d'une manière significative au rendement des individus du lot A (témoin). Nous re-

viendront plus loin sur la signification possible de cette différence.

Pour déterminer quelle était la période de chauffage qui provoquait, après retour à 20° C, le rendement particulièrement élevé observé dans l'expérience ci-dessus décrite (série C) une nouvelle expérience fut réalisée, qui comportait un chauffage au seul stade oeuf. En effet, l'expérience précédente, quoique suggérant que le chauffage intéressant ce stade du développement était responsable des rendements particulièrement élevés observés, ne permettait pas d'exclure l'hypothèse selon laquelle les deux chauffages successifs de l'ovogonie et de l'oeuf étaient nécessaires pour aboutir à ce résultat. Le protocole de la seconde expérience était le suivant.

TABLEAU XIII. Rendement en virus mûr de prépupes : A dont l'évolution antérieure a eu lieu à 20° C, B ayant subi un chauffage au stade ovogonie, C ayant subi un chauffage au stade ovogonie, un autre au stade oeuf.

A (en logarithmes)	B (en logarithmes)	C (en logarithmes)
3,09	3,35	5,16
2,08	2,70	5,75
2,23	3,11	5,15
2,74	2,00	5,17
3,88	2,11	4,45
3,35	2,90	5,66
2,78	3,49	4,86
3,15	3,26	4,22
2,95	3,67	
	3,23	
	3,23	
	3,40	
	2,85	

Des croisements sont réalisés dans des tubes contenant du milieu au maïs à partir de quatre femelles et quatre mâles stabilisés. Pendant cinq jours de suite, quatre de ces tubes sont placés à 30° C : deux pour vingt-quatre heures, deux pour quarante-huit heures, les progéniteurs étant de toute façon retirés après vingt-quatre heures passées à 30° C. Le témoin était constitué par les descendants de croisements identiques, réalisés sur des tubes conservés à 20° C. Je disposais ainsi de descendants de trois types : individus témoin élevés à 20° C (A), individus ayant subi un chauffage de vingt-quatre heures maximum au stade oeuf (B), individus ayant subi un chauffage de quarante-huit heures maximum au stade oeuf (C). Le rendement était suivi dans les trois lots par des broyats collectifs réalisés à partir de dix prépupes prises parmi les premières formées. Il est évident, en effet, que les premières prépupes formées dans les lots B et C proviennent des oeufs pondus les premiers et ayant subi par conséquent les chauffages les plus longs, c'est-à-dire vingt-quatre heures et quarante-huit heures selon les cas, à l'état d'oeuf. Les rendements observés (tableau XIV) montrent, sans qu'aucun doute soit possible, qu'un traitement thermique appliqué au stade oeuf est suivi, lors du retour à 20° C des individus traités, d'une augmentation de leur rendement en virus mûr qui atteint un niveau nettement plus élevé que celui des individus témoin (voir aussi la figure 9, p. 66).

Il est intéressant de noter que ces résultats viennent éclairer un phénomène mis en évidence par Ph. L'HERITIER et A. SIGOT (1946, loc. cit.) et resté jusqu'alors assez mystérieux. Il s'agit de "l'effet protection". Ces auteurs avaient déjà observé qu'à la suite d'une chauffage nymphal, les imagos testées à l'émergence étaient résistantes au CO_2. Lorsque ce chauffage était précédé d'un chauffage embryonnaire, ou larvaire, ou intéressant ces deux stades de l'évolution de la mouche, un grand nombre d'individus s'avéraient être sensibles dès

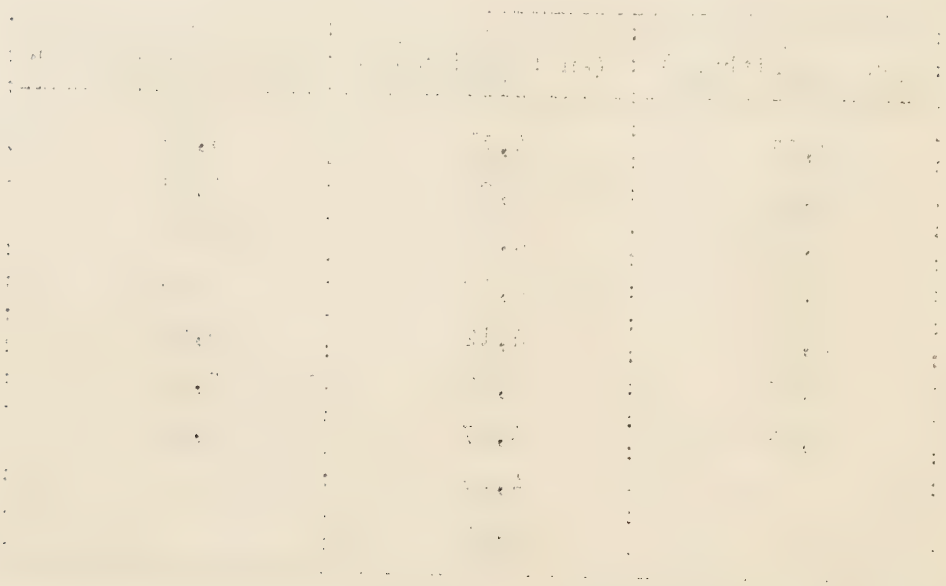
TABLEAU XIV. Rendement en virus mûr de prépupes. A dont l'évolution antérieure a eu lieu à 20° C, B ayant subi un chauffage de vingt-quatre heures au stade oeuf, C ayant subi un chauffage de quarante-huit heures au stade oeuf.

A (en logarithmes)	B (en logarithmes)	C (en logarithmes)
2,65	4,71	4,45
3,45	5,09	4,47
3,49	4,46	4,81
3,08	4,40	4,85
3,08	4,12	5,04
3,85	4,53	5,13
3,35	4,27	5,05
	4,09	
	4,55	

l'émergence. Un chauffage antérieur "protégeait" donc les mouches contre l'effet du chauffage nymphal. "L'effet protection" était maximum dans le cas du chauffage de l'oeuf. Les résultats consignés dans le tableau XIV - qui montrent l'augmentation spectaculaire du rendement des prépupes chauffées au stade embryonnaire - nous apportent une explication claire. Ces pupes, étant beaucoup plus riches en virus, seront plus difficiles à "guérir" que les individus témoin. Il semble dès lors normal que L'HERITIER et SIGOT aient effectivement observé un nombre important d'individus sensibles dans le cas rapporté.

3. Généralité du phénomène de remontée du titre.

Nous avons vu (paragraphe A, 2) que, dans tous les cas, la baisse du rendement en virus mûr, observée lorsque des Drosophiles sont chauffées une fois atteint le "plateau", est suivie, dès le retour à 20° C, d'une remontée du titre qui se stabilise ensuite. Les faits exposés au cours du paragraphe B (1, 2) montrent qu'il en est de même lorsque le chauffage est intervenu avant l'établissement du



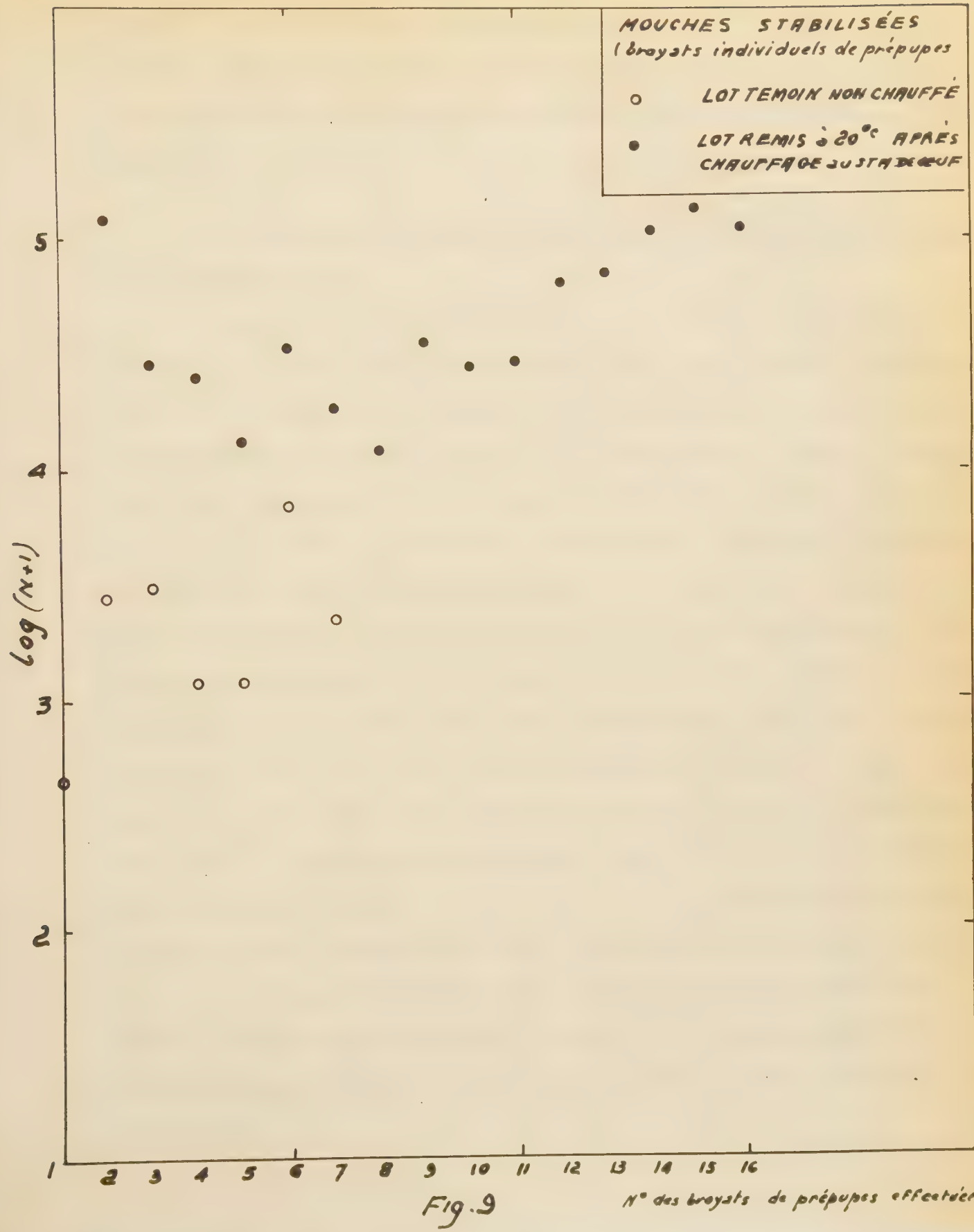


Fig. 9

ndement en virus de prépupes stabilisées, ayant subi un chauffage à 30° C au stade oeuf.

"plateau." L'existence de cette "remontée" prenant place à 20° C après un traitement thermique effectué à 30° C, est donc un fait certain quels que soient l'emplacement et la durée du chauffage, que l'on s'adresse à des mouches stabilisées ou non-stabilisées.

C. DROSOPHILES AYANT SUBI AU MOINS DEUX TRAITEMENTS THERMIQUES SEPARES PAR UN SEJOUR A 20° C.

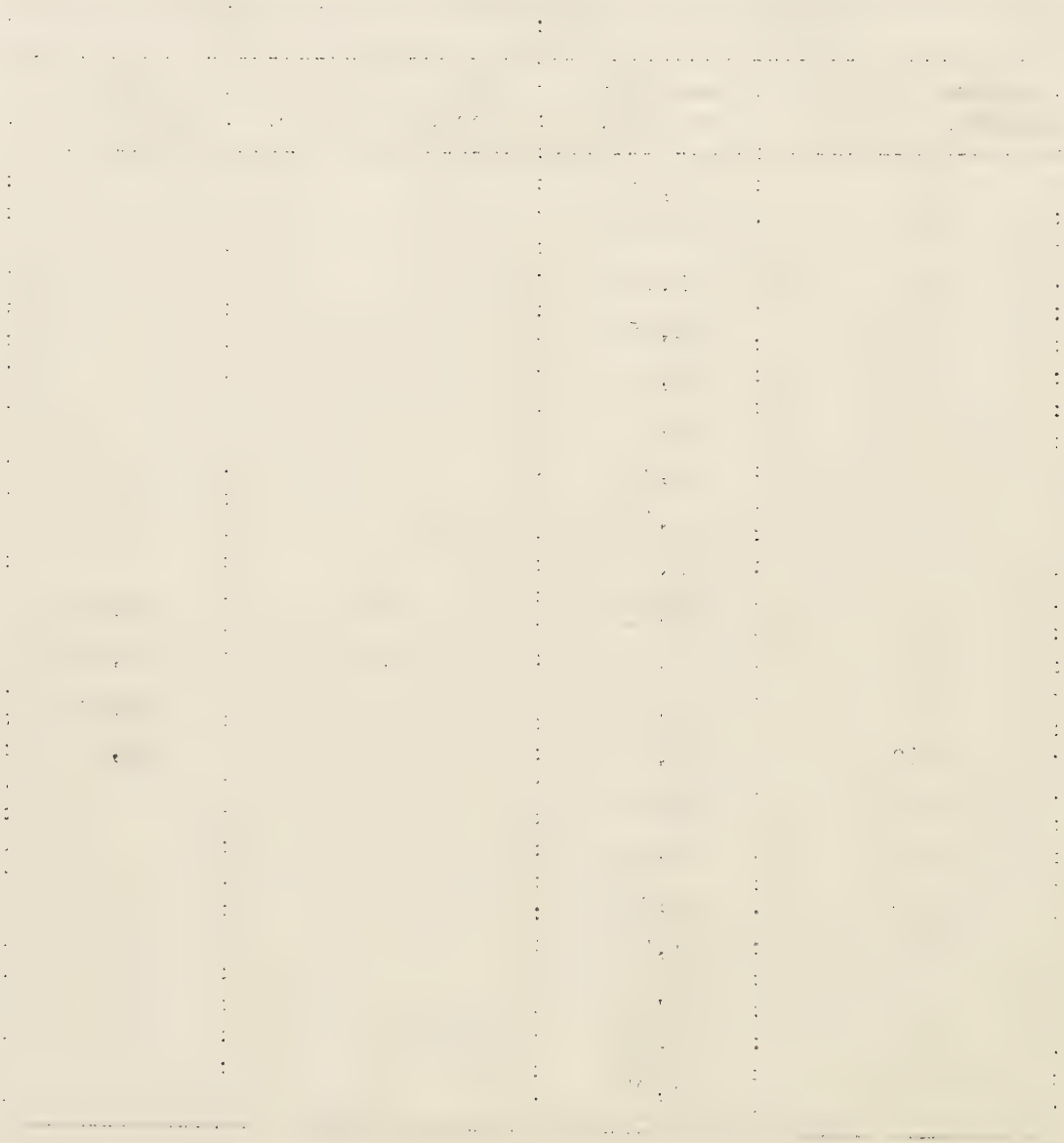
L'expérience décrite au paragraphe A de ce chapitre (expérience 2, p.46) comportait de nombreux lots de mouches qui ont subi des traitements différents. Nous avons vu (tableau IX, p. 50, fig. 6 p.51) l'évolution du rendement des mouches des séries : A (témoin conservé à 20° C pendant toute la durée de l'expérience), B (série maintenue à 30° C), C (série remise à 20° C après un chauffage de dix jours). Les séries D et E montrent respectivement l'évolution du rendement des mouches au cours d'un deuxième chauffage et du retour à 20° C qui lui fait suite. Les Drosophiles constituant le groupe D ont passé successivement : dix jours à 30° C, cinq jours à 20° C, vingt-et-un jours à 30° C. Ces sont les dosages en virus au cours de cette dernière période (vingt-et-un jours à 30° C) qui figurent dans le tableau XV, colonne D. Les Drosophiles du groupe E ont passé successivement : dix jours à 30° C, cinq jours à 20° C, neuf jours à 30° C, puis, quatre jours à 20° C. La colonne E du même tableau rassemble les dosages des mouches au cours de cette dernière période (quatre jours à 20° C). On peut suivre sur la figure 6 (p. 51), l'évolution du rendement dans chacun des cinq groupes de mouches.

On voit que l'évolution à 20° C est qualitativement la même après le premier traitement thermique et après le second ; les dosages augmentent dès que les mouches sont replacées à 20° C et semblent vouloir se fixer ensuite à un nouveau "plateau."

TABLEAU XV. Evolution du rendement en virus mûr de Drosophiles non-stabilisées, : D à 30° C (après dix jours à 30° C suivis de cinq jours à 20° C), E à 20° C (après dix jours à 30° C, cinq jours à 20° C, neuf jours à 30° C).

D		E	
Nombre de jours passés à 30° C	Rendement (en log.)	Nombre de jours passés à 20° C	Rendement (en log.)
0	3,51		
1	3,11		
2	2,74		
3	2,95		
4	3,04		
5	3,11		
6	2,30		
7	2,48		
8	2,18		
9	2,18	0	2,18
10	2,18	2	2,30
11	2,18	3	3,34
12	2,00	4	3,00
13	2,00		
14	1,85		
15	1,56		
18	1,04		
19	1,20		
20	1,04		
21	1,04		

Le chiffre encadré représente le rendement atteint par des mouches chauffées, au moment de leur retour à 20° C (= 0 jour, colonne E).



Ce type d'expérience, comportant des chauffages successifs, a été réalisé plusieurs fois, sur chacun des deux types de mouches sensibles et à la suite de chauffages intervenant soit avant, soit après l'établissement du "plateau". L'augmentation du rendement, dès retour à 20° C, des mouches préalablement chauffées, ainsi que l'établissement d'un nouveau "plateau", ont été observés dans tous les cas.

D. DIFFERENCES OBSERVEES DANS LA CINETIQUE DU PHENOMENE.

1. Suivant l'emplacement, la durée, du traitement thermique appliqué.

Nous avons vu au cours des trois premiers paragraphes de ce chapitre que la baisse du rendement en virus, observée au cours d'un chauffage, était suivie dans tous les cas, dès le retour à 20° C, d'une augmentation du rendement qui se fixe, par la suite, à un niveau stable. Dans la presque totalité des expériences réalisées, celui-ci était atteint après trois ou quatre jours seulement passés à 20° C. C'est ce qui a été observé avec les mouches stabilisées et les non-stabilisées, pour tous les chauffages imaginaux, quelles que soient leur durée et leur période d'application, ainsi que pour les chauffages limités à la seule période nymphale. Les deux exceptions à cette remontée rapide du titre concernent le retour à 20° C de mouches stabilisées et non-stabilisées, après un chauffage commencé à la pupaison et ayant été prolongé au cours des quatorze premiers jours de la vie imaginale (cf. dosages, tableau XI, p. 58). Dans le cas des mouches stabilisées, on voit que le plateau n'est atteint qu'entre le neuvième et le quatorzième jour suivant le retour à 20° C. Dans l'expérience portant sur des mouches non-stabilisées, il semble que celui-ci soit atteint environ huit à neuf jours après la fin du chauffage.

Cette différence de cinétique, observée quel que soit le type de mouches sensibles utilisées, montre que ces chauffages ont une action particulière sur le virus. Nous serons amenés à en reparler au cours du chapitre V.

2. Suivant le type de Drosophiles sensibles utilisées.

Une autre différence, concernant la cinétique du phénomène, apparaît lorsque l'on étudie le plateau des mouches témoin et celui atteint par les mouches placées à 20° C après chauffage, dans chacun des deux types de mouches sensibles utilisées. J'ai comparé, dans chacune des expériences comportant un long retour à 20° C, la moyenne des dosages obtenus pour ces deux "plateaux". Les tableaux XVI et XVII groupent les résultats obtenus dans les expériences concernant respectivement les mouches stabilisées et non-stabilisées.

L'analyse du premier tableau montre que, dans tous les cas (onze expériences), le plateau atteint à 20° C par les Drosophiles stabilisées, préalablement chauffées, est plus élevé que celui des mouches "témoin" non chauffées. Lorsqu'il s'agit d'un chauffage imaginal, les différences sont, sinon significatives (A, E), du moins proches de la limite de signification (B, D), sauf pour le chauffage C, où le t de STUDENT calculé avec neuf degrés de liberté est très faible. Lorsque les traitements thermiques ont été appliqués avant l'émergence imaginale (oeuf, pupe), la différence est beaucoup plus importante et le t de STUDENT atteint une valeur hautement significative. Le seul chauffage préimaginal qui n'a, pour ainsi dire, pas d'effet sur l'évolution ultérieure du rendement à 20° C, est le chauffage ovogonial (H).

Pour les mouches non-stabilisées, on voit, d'après le tableau XVII que, dans onze cas sur douze, le "plateau" atteint par les mouches replacées à 20° C après chauffage est inférieur à celui des mouches "témoin" non chauffées. Seule l'expérience i montre un résultat contraire, mais, on voit que la différence est minime et le t de STUDENT très faible.

Les différences observées étant quantitativement très différentes, selon l'emplacement du chauffage par rapport à l'établissement du "plateau" chez les té-

TABLEAU XVI. Comparaison du niveau des "plateaux" de mouches stabilisées : $\bar{x}$, mouches non chauffées ; $\bar{y}$, mouches remises à 20° C après chauffage.

N° de l'expérience	Nom du chauffage	Type de chauffage	$\bar{x}$ ("témoin")	$\bar{y}$ ("remontée")	t STUDENT	ν	Limite de signification	$\bar{y} - \bar{x}$
I	A	imago	3,63 ± 0,08	3,89 ± 0,08	2,60	10	2,22	+ 0,26
II	B	"	2,80 ± 0,07	3,02 ± 0,03	1,83	67	## 2,00	+ 0,22
III	C	"	3,42 ± 0,13	3,54 ± 0,11	0,60	9	2,26	+ 0,12
IV	D	"	4,05 ± 0,07	4,44 ± 0,24	1,86	31	## 2,00	+ 0,39
V	E	"	1,97 ± 0,16	2,76 ± 0,11	3,95	36	## 2,00	+ 0,79
VI	F	oeuf 24 h.	3,28 ± 0,14	4,47 ± 0,10	7,00	14	2,15	+ 1,19
"	G	oeuf 48 h.	" "	4,83 ± 0,10	15,50	12	2,18	+ 1,55
VII	H	ovogonie	2,92 ± 0,18	3,02 ± 0,14	0,31	20	2,09	+ 0,10
"	I	ovog. + oeuf	" "	5,05 ± 0,18	8,52	15	2,13	+ 2,13
VIII	J	pupe + imago	4,14 ± 0,08	4,58 ± 0,16	2,20	17	2,11	+ 0,44
IX	K	pupe	3,39 ± 0,18	4,58 ± 0,15	4,76	38	## 2,00	+ 1,19

ν représente le nombre de degrés de liberté.

TABLEAU XVII. Comparaison du niveau des "plateaux" de mouches non-stabilisées : $\bar{x}$, mouches non chauffées ; $\bar{y}$, mouches remises à 20° C après chauffage.

N° de l'expérience	Nom du chauffage	Type de chauffage	$\bar{x}$ ("témoin")	$\bar{y}$ ("remontée")	t STUDENT	ν	Limite de signification	$\bar{y} - \bar{x}$
I	a	imago	3,82 ± 0,10	3,64 ± 0,12	0,86	11	2,20	- 0,18
"	b	"	" "	3,63 ± 0,09	0,95	11	2,20	- 0,19
"	c	"	" "	3,46 ± 0,13	2,12	14	2,14	- 0,36
II	d	pupe	4,18 ± 0,08	3,80 ± 0,07	3,80	9	2,26	- 0,38
III	e	"	4,86 ± 0,23	4,35 ± 0,28	1,38	25	2,06	- 0,51
IV	f	pupe + imago	4,39 ± 0,10	4,04 ± 0,17	1,67	19	2,09	- 0,35
V	g	imago	3,73 ± 0,08	3,39 ± 0,13	2,12	22	2,07	- 0,34
VI	h	imago	4,77 (1 seul point)	4,01 ± 0,015	-	-	-	- 0,76
VII	i	"	3,60 ± 0,06	3,68 ± 0,11	0,67	11	2,20	+ 0,08
VIII	j	"	3,74 ± 0,02	3,64 ± 0,19	0,53	13	2,16	- 0,10
IX	k	"	4,80 ± 0,12	4,45 ± 0,07	1,75	17	2,11	- 0,35
X	l	"	4,85 ± 0,07	4,60 ± 0,07	2,50	21	2,08	- 0,25

ν représente le nombre de degrés de liberté.

moins, il faut considérer séparément les résultats des chauffages imaginaux et préimaginaux.

J'ai calculé, pour les mouches stabilisées et non-stabilisées, la moyenne pondérée des différences observées entre le "plateau" atteint à 20° C après chauffage imaginal ($\bar{y}$) et le plateau témoin ($\bar{x}$).

Pour les mouches stabilisées, celle-ci ressort à :

$\bar{d}_{stab.} = + 0,29 \pm 0,07.$

Pour les mouches non-stabilisées, on trouve :

$\bar{d}_{n.\ stab.} = - 0,21 \pm 0,05.$

Ces chiffres mettent en évidence une différence certaine, dont la signification sera discutée au cours du chapitre V.

Une des hypothèses possibles, pour expliquer cette augmentation rapide du rendement, observée dans tous les cas, lorsque des mouches préalablement chauffées sont replacées à 20° C, est évidemment la multiplication des particules virales présentes à la fin du chauffage. Des expériences ont été imaginées qui devraient nous permettre de conserver ou au contraire de rejeter cette hypothèse. Ces expériences, dites "de surinfection", font l'objet du chapitre suivant (chapitre IV).

-----ooOOoo-----

CHAPITRE IV

EXPERIENCES DITES "DE SURINFECTION".

A. PRINCIPE DES EXPERIENCES.

Ces expériences ont été conçues dans le but de fournir un argument qui permettrait de faire un choix, dans le dilemme majeur devant lequel nous nous trouvons pour expliquer l'évolution du rendement chez les Drosophiles, placées à 20° C à la suite d'un chauffage à 30° C. Rappelons que les deux termes de celui-ci sont les suivants :

a) Le virus mûr ayant été progressivement détruit par la chaleur, une nouvelle multiplication a lieu à 20° C à partir des particules survivantes.

b) La chaleur n'a pas sur le virus un effet aussi sévère ; les particules "inactivées" à 30° C, se "réactivent" dès que les Drosophiles sont replacées à 20° C.

Dans la première interprétation, on est obligé d'admettre que la destruction du virus mûr, par la température, redonne aux cellules de la mouche l'aptitude à s'infecter à nouveau et à être le siège d'une nouvelle multiplication virale. Si donc, après un chauffage suffisamment prolongé pour qu'un certain nombre de récepteurs aient été libérés, on introduit dans la Drosophile un virus surinfectant, celui-ci pourra théoriquement s'y multiplier. Si, au contraire, l'action de la chaleur s'est bornée à "faire passer" le virus sous une forme masquée, on peut prévoir que la surinfection ne puisse être possible, les rapports hôte-virus pouvant être les mêmes sous la forme masquée et sous la forme extractible.

Avant d'étudier les expériences de surinfection après chauffage, il est nécessaire de connaître ce qui a lieu lorsque l'on surinfecte des Drosophiles sensibles maintenues à 20° C. Plusieurs observations concernant ce problème ont été faites par G. BRUN et moi-même.

J'ai étudié le rendement de mouches stabilisées et non-stabilisées (Ts g^+) conservées à 20° C et ayant reçu, après l'établissement du "plateau", une inoculation de virus (Tr g^-). Il a été comparé à celui des mouches témoin n'ayant pas reçu de virus surinfectant. Dans le premier cas (stabilisées), les moyennes des rendements dans les deux lots sont très voisins (témoin : $\bar{x} = 2,86 \pm 0,06$; mouches surinfectées : $\bar{y} = 2,92 \pm 0,12$). La valeur du t de STUDENT est évidemment très faible — t = 0,37 pour trente sept degrés de liberté — et extrêmement éloignée de la limite de signification. Dans le cas des non-stabilisées, on trouve les valeurs $\bar{x} = 4,86 \pm 0,22$ pour les mouches témoin, et, $\bar{y} = 4,73 \pm 0,09$ pour les mouches surinfectées. La différence n'est pas significative. On voit d'ailleurs que dans ce cas, ce sont les mouches surinfectées qui présentent le dosage le plus bas. On peut donc conclure que la surinfection de mouches au "plateau" n'aboutit pas à une augmentation perceptible du rendement, ce qui paraît bien indiquer que le virus surinfectant ne se multiplie pas, ou se multiplie très peu. G. BRUN (communication personnelle) a réalisé une expérience similaire, dans laquelle il a suivi avec précision l'évolution du rendement à partir de la surinfection. Les résultats montrent que l'inoculat surinfectant occasionne bien, au début, une légère augmentation du rendement, mais celle-ci diminue très vite et n'est plus perceptible après quinze ou vingt jours. Il semble donc que le virus introduit persiste pendant quelques temps, puis disparaîsse sans se multiplier.

De ces différentes observations, on peut conclure que : a) la surinfection de mouches sensibles est impossible dans les conditions normales de tempéra-

ture, b) il doit être possible de mettre en évidence des particules du virus inoculé, pendant un certain temps, alors même que leur multiplication est impossible dans la mouche. J'ai donc réalisé des expériences en utilisant comme surinfectant un virus Tr, selon le protocole général suivant (fig. 10, p. 77). Des Drosophiles porteuses de virus Ts sont maintenues à 30° C pendant des périodes suffisamment longues pour que la baisse du rendement en virus mûr soit importante. Ces mouches sont alors inoculées avec des extraits virulents concentrés, réalisés à partir de broyats de Drosophiles porteuses de virus Tr. Les mouches sont replacées à 30° C aussitôt l'inoculation réalisée. On sait (Chap. I, p.7) que le virus Tr se distingue du virus Ts par sa capacité à se multiplier à 30° C. Si donc, des récepteurs ont été libérés par le chauffage préalable, le virus Tr introduit doit pouvoir se multiplier et être retrouvé par la suite en broyant les mouches surinfectées. Ces broyats sont opérés individuellement, et avec chaque extrait, on inocul un lot de mouches s.v. (test 1). Celui-ci, placé à 20° C, sera soumis à des passages journaliers dans le CO_2. Si les mouches inoculées restent résistantes, c'est évidemment que le virus Tr ne s'est pas multiplié. Si les tests conduisent à attribuer à la mouche broyée un rendement élevé (en comparaison de celui de mouches témoin conservées à 30° C, mais n'ayant pas subi de surinfection), c'est là l'indice certain d'une multiplication de Tr. Par contre, lorsque la différence avec le témoin n'est pas très élevée, on peut avoir intérêt à identifier génétiquement le virus présent dans la mouche. Il pourrait, en effet, représenter soit du virus Ts ayant survécu au chauffage, soit du virus Tr qui se serait maintenu sans multiplication à la suite de l'inoculation, soit enfin du virus Tr provenant de la multiplication des particules inoculées. Un test a donc été mis au point (test 2), qui permet d'identifier le virus présent même en faible quantité. Pour le réaliser, il est nécessaire que le virus surinfectant diffère du virus <u>in situ</u> non seulement par sa ther-

morésistance (Tr/Ts), mais aussi par sa capacité d'être ou non transmis à la descendance par les femelles inoculées (g^+/g^-). Si le virus <u>in situ</u> est Ts g^+ et le surinfectant Tr g^-, le test d'identification est alors conduit de la manière suivante. Avec l'extrait ayant servi à inoculer les Drosophiles du test 1, on inocule quinze femelles s.v. qui sont ensuite croisées avec quinze mâles s.v. non injectés. On sait (Chap. I, p.7) que, si le virus est g^+, la descendance de ce croisement

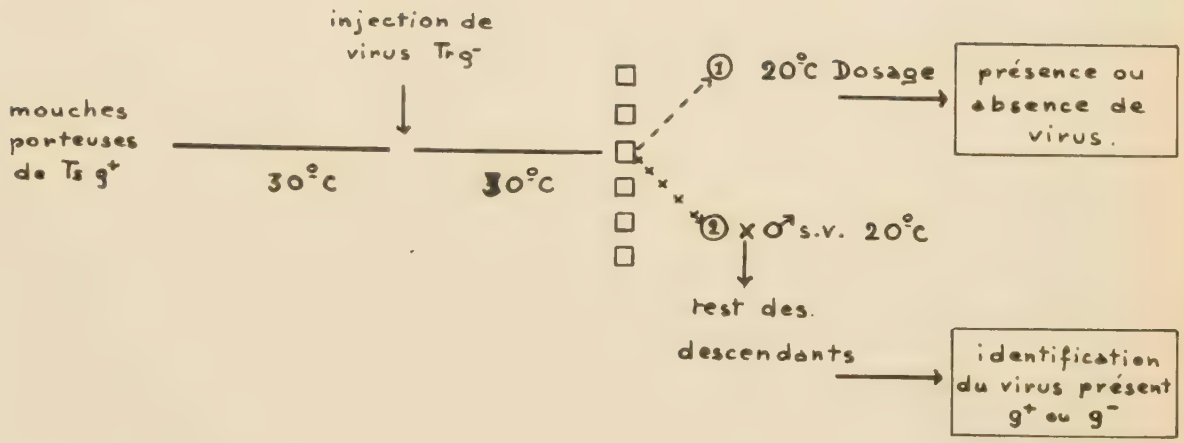


Fig. 10. Schéma d'une expérience de surinfection.

□ broyat d'une mouche individuelle.

-------> injection à des mouches s.v.

+++++++> injection à des ♀ s.v.

comportera un certain nombre d'individus sensibles. Si le virus est g^-, les femelles inoculées deviendront bien sensibles, mais tous leurs descendants seront résistants. Si donc la réponse au test 1 n'est pas nette, le résultat du croisement ci-dessus décrit doit nous permettre d'identifier sans ambiguité le virus présent(1).

B. EXPERIENCES DE SURINFECTION INTERVENANT APRES UN CHAUFFAGE IMAGINAL DE DROSOPHILES DONT LE RENDEMENT EN VIRUS MUR A ATTEINT LE "PLATEAU".

1. Drosophiles non-stabilisées.

Deux expériences seront décrites en détail. La première, réalisée sur des mouches devenues sensibles à la suite d'une inoculation, a été réalisée de la manière suivante. Les Drosophiles s.v., inoculées avec un extrait virulent concentré (virus Ts g^+ de la souche S4a), sont placées à 20° C pour une période de douze jours, afin de permettre au virus de se multiplier. Puis, elles sont maintenues à 30° C pour une durée de neuf jours. Elles sont alors inoculées avec un extrait concentré en virus Tr g^- et replacées aussitôt à 30° C(2).

---

(1) La technique exacte du "passage au germen" est décrite au Chap. I, P 10.

(2) Celui-ci est capable de se multiplier à 30° C dans des mouches s.v., mais il le fait moins rapidement qu'à 20° C. En effet, à 20° C, toutes les Drosophiles s.v. inoculées avec cet extrait sont devenues sensibles au CO_2 au bout de dix-sept jours ($\bar{T}$ = 11,5 jours), tandis qu'à 30° C, au bout du même laps de temps, on observe cette réaction dans cinquante pour cent seulement des individus.

Un autre test a consisté à rechercher le virus Tr g^- dans des mouches s.v. inoculées et placées aussitôt à 30° C. Dix-sept broyats individuels ont été réalisés entre le neuvième et le quatorzième jour suivant l'inoculation. Le virus Tr g^- s'était multiplié dans treize mouches, c'est-à-dire dans soixante-quinze pour cent des cas.

Cinquante neuf broyats individuels[1] sont ensuite réalisés, répartis entre le neuvième et le quatorzième jour suivant l'inoculation du virus Tr (série Ci). Le témoin est constitué par un lot de Drosophiles ayant subi : la même inoculation de virus Ts g^+, le même traitement thermique, mais n'ayant pas été surinfecté (série C_T .). Le diagnostic est réalisé à l'aide de deux tests (1 et 2) décrits plus haut (1, "dosage" p. 76 ; 2, "passage au germen" p.76). La série CT comporte des broyats réalisés du sixième au vingt-troisième jour après le début du chauffage. Huit des douze mouches broyées individuellement les sixième et neuvième jours, renferment quelques particules virales (de vingt à quatre cents), tandis que, sur les seize mouches analysées par la suite, une seule était dans ce cas (vingt particules)[2]. L'inoculation de Tr g^- ayant lieu après neuf jours de chauffage, il restait donc encore à ce moment là, et pour très peu de temps, quelques particules de virus Ts g^+ dans les Drosophiles.

Le tableau XVIII rassemble les résultats obtenus pour les cinquante neuf broyats de la série Ci (mouches ayant reçu une injection de virus Tr g^-). Cinquante trois des extraits réalisés n'ont rendu sensible aucun individu, ni dans le lot utilisé pour le test 1, ni dans les femelles pondeuses utilisées pour le test 2 (signe - dans la colonne : test 1). Les mouches correspondantes étaient donc dé-

---

(1) Les Drosophiles sont broyées individuellement pour pouvoir, le cas échéant, mettre en évidence un cas rare de surinfection réussie, parmi de nombreux échecs. Le broyat collectif contenant une mouche riche en virus parmi d'autres s.v. donnerait un rendement moyen difficilement interprétable.

(2) On sait que les dosages faibles sont souvent surestimés du fait de la méthode utilisée pour les obtenir. Il y avait donc vraisemblablement moins de vingt particules dans la mouche en question.

pourvues de virus. Par contre, six d'entre elles ont montré qu'elles contenaient quelques unités infectantes (de dix à cent cinquante), et, parmi les pondeuses du test 2, au moins 1/5 s'est révélé être sensible dans chacun des lots correspondants (signe + de la colonne : test 1).

Dans quatre cas, des sensibles ont été rencontrées dans la descendance, ce qui identifie comme g^+ le virus récupéré. Dans un autre cas (Ci 16), malgré la présence de quatre sensibles parmi les huit pondeuses encore en vie au moment du test, aucun descendant porteur de virus n'a été observé. Il semble donc bien acquis qu'il s'agisse du virus g^-. Le dernier cas (Ci 46) est douteux, en raison du petit nombre de descendants. Le surinfectant n'a donc été retrouvé avec certitude que dans le cas Ci 16. Le rendement de cette mouche est très faible (cent cinquante unités infectantes). Il est probable que les particules récupérées ne proviennent pas de la multiplication du virus inoculé, mais plutôt de la survie de particules inoculées qui n'ont pas réussi à se multiplier.

Quoiqu'il en soit, les résultats de l'expérience sont très clairs. Sur cinquante neuf mouches ayant reçu du virus Tr g^-, dans les conditions exposées plus haut, deux au maximum se sont révélées être porteuses de quelques particules de ce virus. Leur rendement très faible nous montre que, même chez celles-ci, la surinfection n'a pas déclenché de multiplication. Rappelons que l'infection de mouches s.v. maintenues à 30° C, par un extrait Tr g^-, a réussi à provoquer l'infection dans soixante quinze pour cent des cas. Il semble donc que, chez des Drosophiles non-stabilisées (dont le virus provient d'une inoculation) et apparemment débarrassées de ce virus par un chauffage commençant une fois le "plateau" atteint, la surinfection soit vouée à l'échec [1].

---

(1) Une autre expérience réalisée sur le même matériel aboutit à la même conclusion. Elle ne comportait qu'un petit nombre de broyats et ses résultats n'apportant aucun fait nouveau, je ne la décrirai pas.

TABLEAU XVIII. Expérience de surinfection réalisée sur des mouches non-stabilisées (inoculées avec du virus Ts g^+).

Série Ci (mouches surinfectées)			
Nombre de jours après surinfection.	N° des mouches broyées	Test 1 (présence virus)	Test 2 (identification)
9	1 à 10	-	
10	11, 12, 15, 17, 20:	-	
	13, 14, 18, 19	+	g^+
	16.	+	g^-
11	21 à 30	-	
12	31 à 42	-	
14	43, 44, 45, 47, 48: 49, 50, 51, 52, 53: 54, 56, 57, 58, 59: 60.	-	
	46.	+	g^- ?? *

* La ponte a été particulièrement faible - dizième jour : soixante-dix mouches ; quatorzième jour : quarante-et-une ; dix-huitième jour : onze ; plus aucune mouche ensuite. Le diagnostic g^- n'est donc pas absolument certain.

Le signe - indique que la mouche broyée était s.v. Le signe + qu'elle contenait du virus.

La deuxième expérience dont je voudrais parler a été réalisée sur des Drosophiles ayant reçu le virus ♂ par le spermatozoïde paternel. La population utilisée, issue du croisement ♀ s.v. x ♂ stabilisé S4a[(1)] comportait cinquante-trois pour cent d'individus sensibles (valence calculée sur un grand nombre de mouches, soeurs de celles avec lesquelles l'expérience a été réalisée). Cette expérience est exactement contemporaine de celle qui vient d'être décrite, et, les deux souches virales intervenant sont les mêmes.

Le chauffage à 30° C est appliqué aux Drosophiles douze jours après l'émergence imaginale, c'est-à-dire au même âge que dans l'expérience décrite ci-dessus. Après dix jours de chauffage, une partie des mouches (lot F Ci) est injectée avec un extrait de virus Tr g^-, tandis que l'autre (lot F CT) sert de témoin. Cinquante-et-un broyats individuels sont effectués neuf et quinze jours après l'inoculation. Les deux mêmes tests (1 et 2) sont utilisés pour la mise en évidence éventuelle de virus et son identification. L'utilisation de broyats individuels, que j'ai toujours employés dans les expériences de surinfection quelque soit le type de mouches sensibles utilisées, est ici absolument indispensable. En effet, il y a toujours, dans les descendants du croisement ♀ s.v. x ♂ stabilisé, un pourcentage important de mouches dépourvues de virus (quarante-sept pour cent dans ce cas). Dans celles-ci, le virus introduit par inoculation n'a aucune raison de ne pas se multiplier.

L'examen des résultats des broyats individuels doit nécessairement se faire en tenant compte de l'existence de ces deux catégories d'individus qui ne peuvent être identifiés qu'à posteriori.

Le tableau XIX groupe les résultats obtenus dans le lot témoin F CT et le lot "surinfecté" F Ci. On remarque tout d'abord que, s'il reste encore quelques

---

(1) Le virus de la souche S4a est Ts g^+.

TABLEAU XIX. Expérience de surinfection de mouches non-stabilisées (tenant la sensibilité de leur père), après chauffage imaginal. Série F CT : mouches témoin maintenues à 30° C ; série F Ci : mouches conservées à 30° C après une surinfection prenant place après dix jours de chauffage.

Série F CT			Série F Ci			
Nombre jours passés à 30°C	Nombre mouches broyées	Test 1 (présence virus)	Nombre jours après surinfection	Numéros des mouches broyées	Test 1 (présence virus)	Test 2 (identification)
11	6	-	9	1, 3, 4, 5	-	
	10	+ (1)		6, 9, 10	+	g^+
17	7	-		2, 7, 8	+	g^-
	3	+ (2)	11	12,13,14,15,17,18,19	-	
				16, 20	+	g^+
				11	+	g^-
			12	21, 22, 23, 25, 26		
				27, 28, 29, 30	-	
			13	31,33,35,37,38,39,40	-	
				32, 34, 36	+	g^-
			14	43,44,46,48,49,50	-	
				41, 42, 45, 47	+	g^-
			15	52, 53	-	
				51, 54, 55	+	g^-

(1) de trente à sept cents unités infectantes

(2) de dix à quatre-vingts " " .

quelques particules de virus Ts g^+ mûr (lot F CT) au moment de l'inoculation du surinfectant, il disparaît rapidement par la suite. La surinfection était donc théoriquement possible, si la disparition du virus mûr correspond à la destruction du virus.

Etudions maintenant la série des broyats F Ci, il y en a cinquante-quatre. Parmi ceux-ci, treize correspondent à des mouches porteuses du virus surinfectant. La distribution de ces cas dans le temps évoque le cycle de multiplication du virus. On sait qu'une fois celui-ci introduit dans les mouches par inoculation, il est absorbé dans les cellules. Après la phase d'éclipse, les particules virales réapparaissent et s'accumulent dans la Drosophile. Il semble donc que l'on puisse interpréter les faits de la manière suivante. Le virus g^-, mis en évidence neuf jours après la surinfection, correspond aux particules virales inoculées et non encore absorbées. L'éclipse est totale au cours des onzième et douzième jours. Puis, le virus Tr g^-, provenant de la multiplication des particules inoculées, apparaît[1]. C'est donc la deuxième partie du tableau qui nous intéresse, celle dans laquelle on trouve dix mouches contenant du virus g^- sur un total de vingt-cinq mouches étudiées. Etant donné qu'il y a parmi les mouches utilisées pour l'expérience, quarante-sept pour cent d'individus s.v., il y a théoriquement douze mouches de ce type parmi les vingt-cinq broyées. Sachant que l'infection, par le virus Tr g^-, de mouches s.v. conservées à 30° C réussit dans soixante-quinze pour cent des cas seulement, on doit s'attendre, si le virus inoculé ne se multiplie que dans les mouches dépourvues de virus dès l'origine, à en trouver dans neuf des vingt-cinq mouches broyées. On voit tout de suite que le nombre théorique est en bon accord avec le nombre ob-

---

(1) Le cycle est plus lent que celui que nous avons l'habitude de voir, mais nous savons qu'en effet la multiplication du virus Tr g^- est beaucoup moins rapide à 30° C qu'à 20° C.

servé. En conséquence, on peut conclure à l'échec total de la surinfection par le virus Tr g^- de mouches originellement sensibles (sensibilité venant du père) ayant été débarrassées du virus extractible in situ par un long chauffage.

2. Drosophiles stabilisées.

Réalisée un mois après les expériences qui viennent d'être décrites, l'expérience de surinfection portant sur des mouches stabilisées a été faite avec le même virus $I_s\ g^+$ in situ et avec le même surinfectant Tr g^-. Les Drosophiles utilisées étaient des descendants d'un croisement ♀ stabilisées/x ♂ ^{S4a} s.v. Le protocole est sensiblement le même que pour l'expérience ayant porté sur les descendants du croisement réciproque. Le chauffage a donc commencé à l'âge de douze jours et le surinfectant fut inoculé à une partie des mouches (lot S Ci), après douze jours de chauffage. Le reste des Drosophiles, chauffées, mais non inoculées, sert de témoin (lot S CT). Quarante-quatre broyats individuels du lot S Ci ont été réalisés. Ils sont répartis dans le temps de la manière suivante : douze, dix jours après l'inoculation ; trente-deux, treize jours après celle-ci. Le tableau XX montre les résultats obtenus dans les deux séries. L'inoculation du virus Tr g^- ayant été faite après douze jours de chauffage, on voit (série S CT) qu'il ne restait pratiquement pas de virus in situ à ce moment là. Quant aux mouches surinfectées, il n'a jamais été possible de retrouver le virus Tr g^- dans aucune d'elles.

On peut remarquer que les broyats de ces mouches ont été réalisés un peu plus tôt que dans l'expérience précédente. Ceci n'était évidemment pas prévu, mais a été rendu obligatoire du fait de la mortalité énorme observée dans le lot témoin comme dans le lot de mouches injectées[1]. Toutefois, nous savons, par les

(1) Cette mortalité précoce, qui n'est pas due à l'inoculation, puisqu'elle a été observée aussi bien dans le lot S CT non inoculé, est probablement due à la qualité du milieu utilisé pour cette expérience.

TABLEAU XX. Expérience de surinfection portant sur des mouches stabilisées après chauffage imaginal. Série S CT : témoin, mouches chauffées. Série S Ci : mouches chauffées, surinfectées et maintenues à 30° C.

Série S CT			Série S Ci		
Nombre jours passés à 30° C	Numéros des mouches broyées	Test 1 (présence virus)	Nombre jours passés après surinf.	Numéros des mouches broyées	Test 1 (présence virus)
11	1, 4, 6, 7, 8, 10	-	10	1 à 12	-
	2, 3, 5, 9	+ (1)			
26	11, 12, 13, 14	-	13	13 à 44	-

(1) de trente à cent dix unités infectantes.

résultats de l'expérience réalisée sur les Drosophiles non stabilisées issues du croisement ♀ s.v. x ♂ stabilisé S4a, qu'au bout de treize jours, la présence du virus Tr g^- est facile à déceler (dosages atteignant trois cents à sept cents particules, femelles parentales du passage au germen comportant la plupart du temps soixante-quinze à cent pour cent de sensibles).

Le résultat de cette troisième expérience est donc parfaitement clair. Le surinfectant n'a pu se multiplier dans aucune des mouches stabilisées qui étaient apparemment débarrassées du virus in situ par un chauffage préalable.

Une autre expérience vient d'ailleurs confirmer ces résultats. Comportant beaucoup moins de broyats, elle nous conduit néanmoins à la même conclusion que l'expérience décrite ci-dessus. Le virus Tr, dont je disposais alors, se multipliait très rapidement à 30° C. En effet, toutes les mouches inoculées avec l'extrait mê-

me ayant servi à l'expérience de surinfection et conservées à 30° C, devenaient sensibles, le temps moyen d'incubation étant de 7,4 jours. Les mouches stabilisées utilisées proviennent de croisements frères par soeurs. Un lot de mouches est maintenu à 30° C (lot CT) et leur rendement en virus mûr est suivi journellement par des broyats collectifs (vingt mouches environ). L'inoculation du virus Tr à une partie des mouches conservées à 30° C (lot Ci) a lieu après quatorze jours de chauffage. La recherche de ce virus Tr (test 1, décrit p.)est faite au moyen de deux broyats collectifs réalisés, respectivement, quatre et sept jours après l'inoculation et de douze broyats individuels réalisés sept et huit jours après ce même évènement. Le test d'identification (test 2) n'a pas été réalisé. Lorsque l'inoculation du virus Tr a eu lieu, les Drosophiles contenaient en moyenne vingt-cinq particules Ts. C'est dire que, parmi les mouches inoculées avec le virus Tr, certaines ne contenaient plus du tout de Ts, tandis que d'autres en contenaient un petit nombre, de l'ordre de la centaine. Dans la série Ci, les deux broyats collectifs aboutissent à des dosages moyens très faibles (soixante quinze et cent particules). Or, on sait que ce virus se multiplie très rapidement à 30° C dans les mouches s.v. (temps moyen d'incubation 7,4 jours). Si donc, la multiplication du virus Tr était possible dans les mouches débarrassées par un chauffage préalable du virus extractible Ts, le deuxième broyat effectué 7 jours après l'inoculation devrait présenter un rendement élevé. Il n'en est rien. Même si les particules virales présentes sont Tr[1], elles ne proviennent donc pas de

---

(1) Le diagnostic a été réalisé pour l'extrait correspondant au premier broyat collectif de la manière suivante. Les mouches sensibles ont été broyées collectivement lors de leur apparition au cours des tests de sensibilité destinés à calculer le dosage moyen des Drosophiles. L'extrait était inoculé à un lot de Drosophiles s.v. placées aussitôt à 30° C. Ces mouches, broyées treize jours plus tard, ont donné un rendement très élevé, prouvant que le virus était bien du Tr.

la multiplication du virus inoculé, mais témoignent seulement de la faculté pour ce virus de se maintenir présent pendant quelques jours. Sur les douze mouches broyées individuellèment : sept ne possèdent aucune particule virale, cinq présentent des dosages très faibles qui conduisent naturellement à la même conclusion. Le virus inoculé à des mouches stabilisées, débarrassées de leur "virus mûr" par un chauffage à 30° C, n'a donc pu se multiplier dans celles-ci.

C. EXPERIENCE DE SURINFECTION INTERVENANT CHEZ DES DROSOPHILES AYANT SUBI UN CHAUFFAGE PENDANT LA PERIODE NYMPHALE.

Nous avons vu (Chap. II, p. 33) qu'un chauffage, appliqué pendant la période nymphale, aboutit à un rendement en virus mûr nul au moment de l'émergence. Techniquement parlant, il était donc relativement facile de réaliser des expériences de surinfection après ce type de chauffage. En effet, l'inoculation du virus Tr peut, dans ce cas, avoir lieu chez des mouches jeunes et, par conséquent, capables de supporter un plus long séjour à 30° C au cours duquel le virus "surinfectant" pourra se multiplier, le cas échéant.

Il importe de noter, en outre, que la surinfection peut très bien, dans ce cas, conduire à un résultat différent de celui des expériences décrites plus haut. L'effet spectaculaire des chauffages nymphaux pourrait être attribué en partie au décalage existant, à 30° C, entre la vitesse de multiplication cellulaire de l'hôte et celle du virus in situ. Celui-ci pourrait donc conduire à la formation de cellules dépourvues de virus. Dès lors, la surinfection, qui avait toujours échoué après un chauffage imaginal, pourrait peut être réussir après un chauffage nymphal en raison de la présence de ces cellules dépourvues de virus et n'en ayant jamais contenu. C'est une possibilité dont il faudra tenir compte dans l'interprétation des résultats expérimentaux.

1. Drosophiles non-stabilisées.

Les descendants du croisement ♀ s.v. x ♂ stabilisé S14 (Ts g^+), qui ont été utilisés pour réaliser une expérience de surinfection après chauffage nymphal, présentaient, en moyenne, cinquante pour cent d'individus sensibles au CO_2 et cinquante pour cent d'individus s.v.. Le virus surinfectant était Tr g^-, mais sa multiplication n'était pas très rapide à 30° C. En treize jours, des mouches s.v. inoculées avec l'extrait de ce virus utilisé pour l'expérience et placées à 30° C sont devenues sensibles dans la proportion de 24/49; en quinze jours, ce rapport était de 44/49.

Le protocole de l'expérience est le suivant. Les bouteilles contenant les jeunes pupes sont placées à 30° C. L'émergence a lieu trois ou quatre jours plus tard. Le lendemain, les jeunes imagos sont inoculées avec l'extrait de virus Tr g^- et les Drosophiles replacées aussitôt à 30° C. Avec les extraits obtenus en broyant individuellement ces Drosophiles après neuf, dix, onze, treize et vingt-et-un jours, deux lots de mouches s.v. sont inoculés (test 1, test 2) comme dans les expériences de surinfection déjà décrites.

Les résultats obtenus sont groupés dans le tableau XXI. On voit que, dans l'énorme majorité des cas, les mouches broyées possèdent du virus (test 1). Celui-ci ne correspond jamais au virus Ts g^+. Ceci est bien conforme à l'observation relatée plus haut (Chap. II, p.33) : le rendement des Drosophiles stabilisées (Ts) ou non-stabilisées (Ts) est toujours nul à la sortie d'un chauffage nymphal et reste nul aussi longtemps que les mouches sont maintenues à 30° C.

Huit parmi les Drosophiles broyées individuellement sont cependant dépourvues de virus. Les cinquante-six autres contiennent du virus g^-, c'est-à-dire du surinfectant.

Nous savons que les Drosophiles utilisées dans ces expériences comportent

TABLEAU XXI. Expérience de surinfection de mouches non-stabilisées après chauffage nymphal.

Nombre jours après surinfection	Numéros des mouches broyées	Test 1 (présence du virus)	Test 2 (identification)
9	1, 6, 14, 16, 17, 18	-	
	2, 3, 4, 5, 7, 8, 9 10, 11, 12, 13, 15	+	g^-
10	21	-	
	22 à 35	+	g^-
11	36 à 47	+	g^-
13	48 à 55	+	g^-
21	63	-	
	56 à 62 et 64	+	g^-

cinquante pour cent d'individus résistants chez lesquels le virus inoculé ne doit pas rencontrer d'obstacle à sa multiplication. Si la surinfection réussit à provoquer la multiplication dans les seules mouches s.v., et ceci sans exception, nous devrions théoriquement dénombrer trente-deux mouches contenant du virus g^-, au lieu de cinquante-six effectivement trouvées(1). La différence est manifestement significative, ce qui indique qu'une partie des mouches ayant fourni du surinfectant représente des individus initialement infectés.

Ceci étant établi, il nous reste à savoir si le virus, observé dans ces cas, provient d'une multiplication du virus inoculé ou seulement du maintien provisoire des particules introduites dans ces mouches. On voit que six dosages nuls ont été trouvés neuf jours après la surinfection, un autre dix jours après celle-ci. Toutes les mouches broyées par la suite contiennent du virus g^- à une exception près(2). Il semble donc que cette distribution caractéristique corresponde à la phase d'accumulation du cycle viral. Si le virus mis en évidence correspondait à la survivance des particules inoculées, leur nombre devrait diminuer dans le temps, or, c'est tout le contraire que nous observons.

Il semble donc qu'il y ait bien eu multiplication dans la très grande majorité des mouches broyées. Notons que les dosages obtenus sont variables, ce qui peut signifier que la multiplication de Tr g^- est plus importante chez les mouches n'ayant jamais contenu de virus, plus faible dans les mouches qui auraient été sensibles sans l'application du traitement thermique.

---

(1) Si la multiplication du surinfectant ne réussit pas dans tous les cas, on aurait dû en observer encore moins, bien entendu.

(2) Le cas de la mouche soixante-trois n'est pas clair. On ne peut exclure l'hypothèse qu'il s'agisse d'un individu n'ayant pas reçu l'inoculation surinfectante à la suite d'une erreur expérimentale.

2. Drosophiles stabilisées.

Les Drosophiles stabilisées utilisées pour réaliser l'expérience de surinfection sont des descendants du croisement ♀ stabilisées/x ♂ $\overset{S14}{s.v.}$ [1] qui sont, bien entendu, tous sensibles au CO_2. Le virus surinfectant est le même Tr g^-. Le protocole est le même que pour les mouches non-stabilisées. Les Drosophiles ayant subi un chauffage à 30° C, pendant la période nymphale, sont inoculées le lendemain de l'émergence avec du virus Tr g^-. Replacées aussitôt à 30° C, les Drosophiles sont broyées individuellement par la suite pour rechercher et caractériser le virus éventuellement présent, par les mêmes tests (test 1 et test 2) que dans le cas des mouches non-stabilisées.

Les résultats sont rassemblés dans le tableau XXII. On voit (test 1) que vingt-quatre des quarante-sept mouches présentent un dosage nul et correspondent, par conséquent, à des mouches dépourvues de virus.

Vingt-deux mouches, au contraire, contiennent du virus g^- (nous ne savons rien sur la quarante-septième mouche, n° 29., la plupart des Drosophiles inoculées avec l'extrait correspondant étant mortes rapidement).

Le virus g^-, qui provient de l'inoculation après chauffage de mouches stabilisées, s'est-il multiplié dans celles-ci, ou bien, les particules inoculées se sont-elles maintenues sans se multiplier dans les mouches ? Il semble que l'on puisse conclure que les particules virales se sont bien multipliées dans un certain nombre de mouches. En effet, nous retrouvons ici les deux mêmes arguments que dans l'expérience précédente. Tout d'abord, on voit que la distribution des mouches s.v. dans le temps est très particulière. Onze jours après l'inoculation du virus g^-, une

---

(1) Croisement réciproque et contemporain de celui qui concerne l'expérience précédente.

TABLEAU XXII. Expérience de surinfection réalisée sur des mouches stabilisées, après chauffage nymphal.

Nombre jours après surinfection	Numéros des mouches broyées	Test 1 (présence virus)	Test 2 (identification)
11	7	-	
	1, 2, 3, 4, 5, 6, 8, 9, 10	+	g^-
12	11, 12, 13, 14, 15, 16 19, 20	-	
	17, 18	+	g^-
14	21, 22, 23, 24, 25, 26 27, 28	-	
	30	+	g^-
17	32, 33	-	
	31, 34, 35, 36, 37	+	g^-
19	38, 39, 41, 45, 47	-	
	40, 42, 43, 44, 46	+	g^-

Drosophile seulement sur dix est dépourvue de virus extractible. Le lendemain, la proportion passe à huit sur dix, tandis que, sur les dix mouches broyées quatorze jours après l'inoculation, neuf ne contiennent pas de virus. Puis, à nouveau, le nombre de Drosophiles contenant du virus prend le pas sur le nombre de celles qui en sont dépourvues ; après dix-sept et dix-neuf jours, on observe dix mouches avec virus pour sept sans virus.

Cette évolution n'est pas conforme aux résultats attendus dans l'hypothèse de la disparition progressive du surinfectant. On sait, en effet, que lorsque celui-ci ne peut se multiplier, le nombre de particules présentes diminue dans le temps, et, en conséquence, le nombre de mouches s.v. doit augmenter.

Les faits observés pourraient par contre parfaitement traduire, une fois de plus, les différentes phases du cycle de multiplication virale. On observerait ici, d'abord une diminution du rendement, qui se trouve être nul dans pratiquement toutes les mouches broyées quatorze jours après l'inoculation (phase d'éclipse du cycle de multiplication) ; puis, la phase d'accumulation des particules qui se traduit par un nombre beaucoup plus grand de mouches comportant du virus g^-.

Nous sommes donc fondés à penser qu'une certaine multiplication du virus surinfectant a bien au lieu, dans environ la moitié des mouches inoculées.

D. DISCUSSION.

En ce qui concerne les mouches ayant subi un chauffage imaginal, les faits sont donc très clairs. La surinfection échoue dans tous les cas, quel que soit le type de mouches sensibles utilisées. Cet échec est un argument très fort contre l'hypothèse selon laquelle la réapparition rapide du titre à 20° C, après chauffage, traduit une multiplication de particules virales.

Les résultats des expériences de surinfection intervenant après chauffage

nymphal se sont révélés différents. Nous avions vu déjà, au chapitre II, p. 33, que les chauffages appliqués pendant la période nymphale présentent une efficacité particulière. J'ai repris l'hypothèse formulée par Ph. L'HERITIER et A. SIGOT (1946, loc. cit.), pour expliquer les effets spectaculaires des chauffages, lorsqu'ils sont appliqués pendant une période de multiplication cellulaire intense chez la Drosophile. Le décalage entre la vitesse de multiplication des particules virales (freinée par le chauffage) et de la multiplication cellulaire de l'hôte (accélérée) semble bien en effet aboutir à l'existence, chez la Drosophile, de cellules dépourvues de virus. Le fait que la surinfection devienne possible après un tel chauffage vient encore confirmer cette interprétation.

Nous avons vu que, chez les mouches stabilisées comme chez les non-stabilisées, ayant subi un chauffage nymphal, la surinfection est possible.

Notons, en outre, que les rendements en virus surinfectant, qui ont été observés, sont bien conformes à l'hypothèse selon laquelle ce virus se multiplie dans les cellules accidentellement libérées par le chauffage. Ces cellules doivent, en effet, ne former qu'une fraction de l'individu, qui doit être une mosaïque, et, en conséquence, le nombre de particules surinfectantes Tr fourni par mouche devra être faible. Or, c'est bien ce que l'on observe à une exception près, dans l'expérience relatée plus haut (chapitre IV, p.92) et ayant porté sur des Drosophiles stabilisées. Sur les vingt-deux mouches broyées, qui se sont révélées être porteuses de virus Tr, une seule a montré un rendement relativement élevé, (1) tandis que les vingt-et-une autres ont dû être dosées par ségrégation, les rendements s'échelonnant entre vingt et sept cents particules par mouche.

---

(1) Quinze jours après l'inoculation des Drosophiles s.v. avec l'extrait correspondant, toutes les mouches étaient sensibles au CO_2.

L'expérience réalisée avec des mouches non-stabilisées (chapitre IV, p.89), qui comportaient au départ environ cinquante pour cent d'individus résistants, a montré que les Drosophiles contenant du virus Tr g^- avaient des rendements fort différents les uns des autres. Si le chauffage nymphal a bien, sur le complexe σ^* - Drosophile, l'action qui a été suggérée, il y avait au moment de l'inoculation du virus Tr g^- deux sortes de Drosophiles : les unes, totalement dépourvues de virus, les autres étant des mosaïques de cellules s.v. et de cellules comportant du virus Ts g^+. Dans ces conditions, on peut s'attendre à obtenir des rendements élevés en Tr g^- dans la première catégorie de mouches, moins élevés dans la seconde. Il semble bien que les résultats soient conformes à ce schéma.

J'ai groupé, dans la figure 11 (p. 98), les résultats des deux expériences. Les mouches, individuellement broyées, y sont groupées par classes, selon leur rendement en virus Tr g^-. On voit que, dans l'expérience portant sur des mouches non-stabilisées, la classe des mouches à rendement élevé (> huit cents particules) est représentée par trente-quatre individus, alors qu'elle était totalement absente dans la première expérience. Cet effectif (34/60) correspond bien au pourcentage de mouches s.v. présentes dans les non-stabilisées utilisées, ce qui vient confirmer l'hypothèse énoncée plus haut.

Quoiqu'il en soit, le but de ces expériences de surinfection était de trancher entre les deux hypothèses envisagées pour expliquer la réapparition du virus mûr, après la cessation d'un chauffage : multiplication à partir de particules survivantes et réactivation des particules modifiées d'une manière réversible par la température. Les résultats sont très clairs et montrent que les phénomènes observés, à la suite des chauffages imaginaux, ne peuvent être dûs à une multiplication virale. Les cas où l'on peut mettre en évidence une réelle, quoique faible, multiplication ont trait aux chauffages nymphaux. Ils viennent confirmer

Fig. 11. Répartition des rendements en virus des mouches individuelles après surinfection.
——— mouches stabilisées.
- - - - - - - - mouches non-stabilisées.

l'effet particulier du chauffage intervenant à ce stade et l'interprétation que nous avions proposée pour celui-ci.

-----ooOOoo-----

CHAPITRE V

DISCUSSION DES RESULTATS EXPERIMENTAUX

Nous avons étudié, dans les chapitres précédents, l'évolution du rendement, en virus mûr, de Drosophiles sensibles au CO_2, au cours de chauffages effectués à 30° C (chapitre II) et lorsque les mouches sont replacées à 20° C après chauffage (chapitre III). Etant maintenant en possession de l'ensemble des résultats expérimentaux, nous sommes en mesure de discuter des mécanismes responsables des phénomènes observés. Pour ce faire, nous étudierons d'abord les effets de la température, qui sont communs aux deux types de Drosophiles sensibles. Nous tenterons ensuite d'interpréter les différences observées selon ces types.

A. PHENOMENES COMMUNS AUX DEUX TYPES DE DROSOPHILES SENSIBLES.

Rappelons les aspects principaux des phénomènes observés. 1°) Le rendement en virus mûr des mouches placées à 30° C baisse au cours du temps. Cette baisse est beaucoup plus rapide dans le cas des chauffages nymphaux que dans celui des chauffages imaginaux. 2°) A cette température, la courbe log. du rendement/temps correspond sensiblement à deux droites successives de pentes différentes ($b_1 > b_2$). 3°) Le rendement augmente très rapidement dès que cesse le chauffage, pour se fixer à un niveau qui reste constant par la suite.

Il nous faut, pour chaque hypothèse proposée, voir si elle est compatible avec ces faits.

La première hypothèse peut être formulée dans les termes suivants. Une fois terminée la phase d'accumulation rapide du virus mûr, les particules formées

restent présentes pendant toute la vie de la Drosophile conservée à 20° C. Le "plateau" correspond à cette"récolte unique" de virus. La chaleur, en détruisant les particules virales, entraîne la baisse du rendement selon une cinétique à un coup. Les deux pentes successives correspondent à l'inactivation de particules ayant des thermosensibilités différentes. La deuxième pente est due à la présence de particules plus thermorésistantes, soit du fait de leur localisation dans des tissus particuliers de la Drosophile, soit pour toute autre raison. L'augmentation du rendement, observée dès le retour à 20° C des mouches chauffées, est alors la conséquence d'une nouvelle multiplication virale, réalisée à partir des particules qui ont survécu au chauffage.

A première vue, cette hypothèse semble pouvoir rendre compte des trois faits énoncés plus haut. Voyons quelles en seraient les conséquences.

Tout d'abord, si l'augmentation du titre à 20° C est le résultat d'une multiplication de particules virales survivantes, il est évident que le temps nécessaire pour atteindre le nouveau "plateau" dépendra directement du nombre de particules présentes à la fin du chauffage. Cette période de multiplication sera d'autant plus longue qu'il restait moins de particules virales dans la mouche. C'est dire que, dans une même expérience, le temps nécessaire, pour atteindre à 20° C le nouveau "plateau", devra être d'autant plus long que le chauffage aura lui-même été plus prolongé. Le temps nécessaire à l'établissement du nouveau "plateau" après un chauffage imaginal est toujours à peu près du même ordre. Même à la suite d'un chauffage nymphal seul qui, nous l'avons vu, aboutit à des dosages nuls, cette période de remontée, qui devrait être particulièrement longue, est toujours du même ordre de grandeur[1].

---

(1) Nous avons vu (chapitre III, p.69) qu'il existe une exception à cette règle. Il s'agit de Drosophiles ayant subi un chauffage commencé à la pupaison et se prolongeant longtemps après l'émergence imaginale. Dix jours environ sont alors nécessaires pour atteindre, à 20°C le nouveau "plateau", au lieu de trois ou quatre généralement suffisants. Ce cas particulier sera examiné un peu plus loin à la fin du paragraphe A.

La durée même de celle-ci est un autre argument qui s'oppose à l'hypothèse énoncée. En effet, même lorsque le chauffage a abouti à des dosages apparents, nuls, qui ne peuvent donc correspondre qu'à la présence d'un très petit nombre de particules épargnées (sinon à leur absence totale), la remontée du titre est extrêmement rapide (de l'ordre de trois jours). Or, on sait (N. PLUS, 1954, loc. cit.) que la multiplication de σ dans la Drosophile - que le virus provienne d'une inoculation, qu'il ait été amené dans l'oeuf par le spermatozoïde ou transmis par la femelle/- s'étend sur une période toujours beaucoup plus longue.

stabilisée

Le fait que, dans tous les cas, le rendement en virus augmente immédiatement, dès le retour à 20° C, sans que l'on n'observe jamais de temps de latence est également difficilement conciliable avec l'hypothèse de la multiplication.

Un autre argument plus direct contre l'hypothèse : inactivation irréversible à 30° C, multiplication des particules épargnées à 20° C, est fourni par les résultats des expériences dites "de surinfection" décrites au chapitre IV. Nous avons vu que la multiplication du surinfectant, inoculé après chauffage imaginal, échoue dans tous les cas. Il faut donc bien admettre que le virus autochtone n'a disparu qu'en apparence, qu'il reste présent, peut être sous une autre forme, en quantité suffisante pour interdire la multiplication du surinfectant Tr. Ces résultats n'apportent pas d'argument réellement définitif contre l'hypothèse, selon laquelle l'augmentation du titre observée à 20° C est due à une multiplication virale. En effet, on peut objecter que le surinfectant est désavantagé par rapport au virus autochtone. Si la multiplication du premier est impossible, il n'est pas certain, pour cette raison, qu'il en soit de même pour le second. Malgré tout, si l'échec de la surinfection ne permet pas à lui seul d'éliminer l'hypothèse énoncée, il s'ajoute aux autres faits qui tendent à la faire rejeter. A ceux-ci, on peut d'ailleurs ajouter un résultat récemment obtenu au laboratoire. L'inhibiteur

de synthèse nucléique 5-fluoro-deoxy-uridine[1] ne semble rien changer à la remontée du rendement après cessation du chauffage (Pierre BOISTARD, communication personnelle). Ce fait sera discuté à nouveau un peu plus loin.

Au total, il semble que ces différents arguments nous autorisent à écarter la première hypothèse.

Examinons maintenant la seconde. Elle consiste à imaginer que le "plateau" correspond à un équilibre dynamique entre une formation et une destruction continuelles de particules virales complètes. Que le chauffage stoppe ou freine la production du virus, ou bien accélère sa destruction, ou encore agisse en même temps sur ces deux phénomènes, cette hypothèse de "turn-over" peut rendre compte des faits observés. Le segment de droite à pente faible traduirait alors l'action de la température sur des particules virales localisées dans des tissus de l'hôte, chez lesquels le "turn-over" serait moins rapide. On pourrait considérer également, étant donné sa faible pente, qu'il correspond à l'établissement d'un "plateau"[2] traduisant un nouvel équilibre à 30° C. Le retour à 20° C des Drosophiles, rétablirait les conditions du "turn-over" initial et le rendement augmenterait à nouveau jusqu'au rétablissement de l'équilibre.

Cette hypothèse est donc en accord avec la cinétique des faits observés et permet également de rendre compte de l'échec de la surinfection. En effet, l'augmentation de rendement observée, dès retour à 20° C des Drosophiles, corres-

---

(1) Le FUDR est un inhibiteur de la synthèse de l'ADN, il retarde la multiplication du virus σ dans la Drosophile (N. PLUS, communication personnelle).

(2) Le "plateau" observé à 20° C, n'est pas toujours parfaitement horizontal. Dans certaines expériences, on observe en fait une baisse du titre, dont la vitesse est assez voisine de celle qui correspond aux segments de droite de pente faible (b_2) observés au cours des chauffages.

pond dans cette hypothèse à la reprise de la production normale continue de virus à partir de récepteurs occupés par le virus végétatif. Le virus surinfectant n'a pas la possibilité de se multiplier, le chauffage n'ayant pas libéré de récepteurs.

Cependant, dans l'hypothèse envisagée, un autre aspect des relations de σ^- avec son hôte serait difficile à comprendre : c'est l'allure de la "courbe de passage au germen". Rappelons que, lorsque des ♀ s.v. inoculées avec un extrait de virus g^+ sont croisées avec des σ s.v., la descendance comporte un certain nombre d'individus sensibles. L'évolution de leur fréquence dans les pontes successives suit une marche caractéristique, qui dessine une sorte de courbe en cloche dissymétrique. Les premières mouches sensibles apparaissent au moment où le "plateau" est atteint dans les mouches inoculées. Puis, leur pourcentage augmente, passe par un maximum et tend à nouveau vers zéro. L'interprétation de cette courbe de "passage au germen" a été discutée par divers auteurs (G. BRUN, thèse de doctorat en préparation et A. OHANESSIAN-GUILLEMAIN, thèse de doctorat sous presse).

Les faits paraissent bien montrer que les cellules germinales ne s'infectent que tardivement, au stade ovocyte I vraisemblablement, à partir de particules virales produites par les cellules somatiques des parois des ovarioles. La baisse d'efficacité du "passage au germen", au delà du maximum, indique alors que celles-ci ne sont capables de fabriquer qu'un nombre limité de particules, qui sont pour ainsi dire "épongées" par la prolifération des cellules germinales. Cette même baisse serait très difficile à comprendre dans l'hypothèse où les cellules somatiques de la Drosophile fonctionneraient comme des producteurs continus de particules virales mûres. On devrait s'attendre, en effet, dans ce cas, à voir l'efficacité du "passage au germen" suivre la même évolution que le rendement

total en virus infectieux, c'est-à-dire se stabiliser à un niveau qui serait maintenu pendant toute la survie de la femelle.

Enfin, le cas de cellules ne subissant pas de multiplication et fabriquant des virus pendant plusieurs semaines d'affilée réaliserait une situation apparemment exceptionnelle en virologie. On sait que, dans le cas du phage, à la phase d'accumulation du virus succède la lyse bactérienne qui détruit l'organisme hôte et met fin à la production de virus environ vingt minutes après son adsorption sur la surface bactérienne (S.E. LURIA, 1953). Dans le cas des virus animaux, il semble que la production de virus par les cellules ait lieu pendant des périodes plus longues. Chez les cellules de rein de singe infectées avec du virus de la poliomyélite, par exemple, la libération de particules virales n'est totalement terminée que 6h.30 après l'infection des cellules. R. DULBECCO et M. VOGT (1954) rapportent que la production de virus de l'encéphalomyélite équine de l'Ouest, par les cellules d'embryon de poulet infectées, commence après une période de latence de deux heures trente, pour être complète environ sept ou huit heures plus tard. Enfin, dans les cultures de cellules d'embryon de souris, infectées avec le virus du polyome, la période de libération du virus s'étend sur plusieurs jours (R. DULBECCO, 1960). Il existe toutefois une exception à ces productions de virus limitées dans le temps. Il s'agit du virus du sarcome de ROUS libéré par les cultures de cellules d'embryon de poulet. La production du virus commence quatorze heures après l'infection. Elle augmente ensuite pour atteindre un maximum après trois ou quatre jours. La libération du virus continue, ensuite, pendant un temps pratiquement infini (R. DULBECCO, 1960, loc. cit.). Notons qu'il existe une grande différence entre ces cellules en culture, dont la croissance et la division continuent pendant la libération virale (R. DULBECCO, 1959) et le cas de l'imago de la Drosophile, chez laquelle il n'y a pas de division cellulaire pendant la vie imaginale (sauf dans le tissu germinal). Il n'existe pas, apparemment, d'exemples de

cellules ne se divisant pas et produisant du virus pendant un mois et plus, comme le suppose l'hypothèse du "turn-over" viral chez la Drosophile sensible au CO_2.

Ces différents faits nous conduisent à conclure que la deuxième hypothèse est elle aussi très probablement à rejeter.

Des expériences d'un type tout à fait différent conduisent à la même conclusion. Elles "utilisent" les inhibiteurs de synthèse. Ces corps chimiques interdisent, soit la synthèse des protéines, soit celle de l'acide nucléique. Si le "plateau" est un équilibre dynamique entre la production et le destruction de particules virales, il est bien évident qu'il suppose une synthèse ininterrompue de protéines et d'acide nucléique. L'administration d'un de ces inhibiteurs aux Drosophiles ayant atteint le "plateau", soit par inoculation, soit per os, devrait naturellement se traduire par une baisse du rendement en virus à 20° C. Or, l'injection de 5-fluoro-deoxy-uridine (inhibiteur de la synthèse de l'acide désoxyribonucléique qui retarde, nous l'avons vu, la multiplication de σ) à des mouches ayant atteint le "plateau", n'a pas d'action sur celui-ci (P. PRINTZ, communication personnelle). D'autre part, nous avons vu (chapitre V, p. 103) que cette même substance ne change rien, non plus, à la rapide augmentation du rendement observée après retour à 20° C de mouches préalablement chauffées. Il semble donc que l'on puisse écarter cette seconde hypothèse.

La troisième hypothèse suppose une récolte unique en ce qui concerne l'acide nucléique viral. Le matériel génétique des particules serait formé dès l'établissement du "plateau" et resterait présent pendant toute la vie de la mouche. La température ne jouerait que sur l'enveloppe du virus.

On sait que la thermosensibilité des virus in vitro peut dépendre, en fait, d'une altération de l'enveloppe. C'est ainsi que R. MARKHAM (1959) signale

que, dans le cas de la Mosaïque du Tabac, la protéine est beaucoup plus sensible que l'acide nucléique à l'action de la température (la protéine virale est dénaturée à 36° C, le virus à 75° C environ).

Toujours sur la Mosaïque du Tabac, d'autre part, des phénomènes d'inactivation réversible ont été observés. Divers agents permettent, en effet, de séparer l'acide nucléique de la partie protéique de la particule (F.C. BAWDEN et N.W. PIRIE, 1937 ; W.M. STANLEY et H.S. LORING, 1938 ; M.A. LAUFFER et W.C. PRICE, 1941).

L'ARN isolé manifeste un certain pouvoir infectieux (A. GIERER et G. SCHRAMM, 1956 ; H. FRAENKEL-CONRAT et R.C. WILLIAMS, 1957). En fait, si l'ARN est essentiel au pouvoir infectieux, sa présence n'est pas suffisante. Il semble que la présence d'une petite quantité au moins de protéine virale soit indispensable à son activité (B. COMMONER, 1959, 1960). D'autre part, on peut reconstituer, à partir de l'acide nucléique et de la protéine séparés, des particules virales qui sont pratiquement indistinguables des particules normales du virus de la Mosaïque du Tabac (H. FRAENKEL-CONRAT et B. SINGER, 1959a et 1959b). Le processus de reconstitution s'accompagne d'une considérable augmentation du pouvoir infectieux (cent à quatre cents fois).

S'inspirant de ce modèle, on peut alors supposer que la température agit de manière réversible sur les particules de σ^- , soit en séparant l'acide nucléique de l'enveloppe comme dans le cas de la Mosaïque du Tabac, soit en faisant subir aux protéines de l'enveloppe une dénaturation réversible qui supprimerait le pouvoir infectieux.

Ceci étant, on peut imaginer cette action de la température de deux manières différentes. La température utilisée, 30° C, pourrait introduire un processus n'intervenant absolument pas à 20° C. A cette température, il y aurait

donc une récolte unique de particules mûres qui se maintiendraient tout au long de la vie de la mouche. A 30° C, l'enveloppe serait altérée et, de ce fait, les particules perdraient leur pouvoir infectieux. La courbe log. du rendement/temps traduirait ce phénomène qui devrait normalement aboutir à la disparition totale du virus. L'existence de la deuxième pente nous oblige toutefois à imaginer, comme dans les deux premières hypothèses énoncées, qu'il existe deux types de particules différant par leur thermosensibilité.

Il faut avouer qu'il est assez difficile d'imaginer qu'un phénomène aussi spectaculaire à 30° C, existant également à 25° C[(1)], n'intervienne absolument pas à 20° C. Il paraît donc plus vraisemblable que le "plateau" observé à 20° C soit, en fait, le résultat d'un équilibre dynamique entre la production de particules complètes (maturation) et leur inactivation réversible, que l'on peut envisager comme une sorte de réabsorption par la cellule. A cette température, les deux réactions s'équilibrent, tandis que le chauffage, en modifiant les vitesses des processus, provoque les phénomènes qui ont été décrits.

L'hypothèse considérée conduit donc à envisager l'existence dans la Drosophile - et probablement au niveau de chaque cellule - de deux types de particules. Les unes seraient complètes donc infectieuses, les autres non-infectieuses parce que dépourvues d'une partie au moins de leur enveloppe protéique. La transformation d'une forme dans l'autre se produirait continuellement à 20° C, pendant toute la vie de la Drosophile-hôte (fig. 12, p. 109).

Pour expliquer la disparition du virus infectieux à 30° C, il suffit d'imaginer que la chaleur intervient, soit par blocage partiel ou total du proces-

---

(1) J'ai réalisé, au début de mes recherches, une expérience comportant un chauffage à 25° C. La baisse du rendement y est très nette, de même que la remontée du titre dès retour à 20° C des mouches préalablement chauffées.

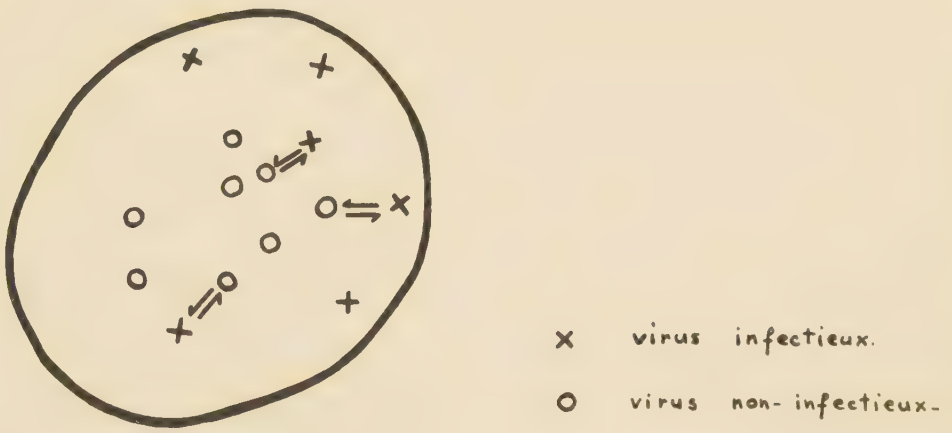


Fig. 12. Représentation schématique de l'équilibre entre particules virales infectieuses et non-infectieuses.

sus de maturation, soit par accélération de l'absorption, soit par les deux mécanismes simultanés. Dans chacun des cas, il est bien évident que le rendement doit baisser, ce que nous observons effectivement. Lorsque les Drosophiles sont replacées à 20° C, les vitesses des réactions changent à nouveau. Un grand nombre de particules infectieuses ayant été inactivées à 30° C, la réaction d'absorption ne peut être très importante. La réaction de maturation, par contre, prend une grande ampleur, ce qui entraîne l'augmentation rapide du rendement.

Dans cette hypothèse (maturation - réabsorption, avec modifications des constantes de la température), on doit s'attendre à ce qu'à 30° C, s'installe un nouvel équilibre se traduisant par un nouveau "plateau". Il n'est pas impossible que ce que nous avons appelé deuxième pente corresponde en fait à ce "plateau".

S'il n'est pas horizontal, c'est qu'un deuxième phénomène, distinct du processus réversible ci-dessus exposé, viendrait s'ajouter au premier. Il se produirait, à cette température, une inactivation définitive, conséquence de la destruction du matériel génétique des particules virales, que celles-ci soient ou non à l'état infectieux. Ce dernier phénomène interviendrait également à 20° C, mais à une vitesse moindre. Comme il a été déjà signalé, il n'est pas rare, en effet, que même à 20° C le rendement de Drosophiles sensibles baisse lentement au cours du temps. Les "plateaux" ne sont donc pas réellement horizontaux ; leur pente, toujours faible, dépend de la souche virale utilisée.

L'interprétation, qui vient d'être proposée pour la deuxième pente, pourrait expliquer la différence négative que l'on observe toujours chez les mouches non-stabilisées, entre le "plateau" témoin et le "plateau" atteint à 20° C après un chauffage à 30° C. Si le processus d'inactivation irréversible est accéléré par le chauffage, il est évident que la perte sera plus importante dans le lot chauffé que dans le lot témoin.

Examinons maintenant le cas des chauffages intervenant au stade nymphal. Nous avons vu (Chap. II, p. 33) que leur action est particulièrement spectaculaire. La baisse de rendement observée, après trois jours à 30° C, y est beaucoup plus forte que dans aucun autre cas (pente au moins égale à - 1,33). D'autre part (cf. Chap. IV), la surinfection devient possible, ce qui prouve l'existence de récepteurs libres à la suite d'une chauffage de ce type.

Pour interpréter ces faits, il faut tenir compte de ce qui se produit chez la Drosophile au cours de la nymphose. Celle-ci correspond à une période d'histolyse et de multiplication cellulaire intenses, alors que, pendant la période imaginale, il n'y a pas de mitose, sinon dans le tissu germinal. Ces conditions particulières des chauffages nymphaux par rapport aux chauffages imaginaux, peu-

vent-elles expliquer les résultats différents obtenus dans les deux cas ? Ph. L'HERITIER et A. SIGOT (1946, loc. cit.) ont invoqué, pour expliquer les guérisons germinales obtenues à la suite d'un chauffage appliqué pendant une période de division cellulaire, un décalage, entre la vitesse de multiplication des cellules de l'hôte et celle de la multiplication du virus, provoqué par l'élévation de la température. Ceci aboutirait à la formation de cellules de Drosophiles dépourvues de virus. Cette même explication me paraît devoir rendre compte des conséquences des chauffages nymphaux sur le rendement des mouches en virus mûr. L'action de la chaleur dans ce cas serait double. Elle ferait intervenir, tout d'abord, le même mécanisme d'inactivation réversible du virus mûr qui joue lorsque le chauffage est appliqué après l'établissement du "plateau" (hypothèse exposée plus haut). D'autre part, la formation de cellules nouvelles, libres de virus, entraînerait une absorption par ces récepteurs d'un certain nombre de particules mûres[1]. Celles-ci passeraient alors au stade végétatif et seraient capables d'amorcer un nouveau cycle de multiplication si les conditions de température le leur permettaient, ce qui n'est pas le cas à 30° C. On voit que cette hypothèse peut rendre compte de la vitesse particulièrement rapide de la disparition du virus au cours des chauffages s'étendant sur des périodes de multiplication cellulaire.

Nous avons vu que l'évolution à 20° C du rendement en virus, d'imagos ayant subi un chauffage de ce type, peut présenter deux types de cinétique. Si

---

(1) Cette supposition est étayée par les observations de J.C. BREGLIANO (communication personnelle). Celui-ci a suivi avec soin le rendement de Drosophiles sensibles stabilisées, depuis le stade oeuf jusqu'après l'émergence imaginale. Il a pu mettre en évidence une diminution momentanée du titre, pendant la nymphose, qui n'avait pas été remarquée par les auteurs antérieurs. Celle-ci doit traduire une absorption des particules mûres par les cellules nouvellement formées.

le traitement thermique est limité à la période nymphale, le nouveau "plateau" sera atteint à 20° C après environ trois jours (Chap. III, p.69). S'il se prolonge pendant les quatorze premiers jours de la vie imaginale (Chap. III, p.69), la remontée au niveau du "plateau" nécessite une dizaine de jours. Comment cette différence peut-elle être expliquée ? Reprenons l'hypothèse qui vient d'être présentée. Elle suppose qu'au cours du chauffage nymphal la disparition du virus mûr est due à deux mécanismes différents. Le premier est identique à celui qui est responsable de la baisse du rendement observée au cours des chauffages imaginaux. Le second est l'absorption de particules par des récepteurs nouveaux, il s'accompagne de leur passage au stade végétatif non extractible. Si les imagos sont replacées à 20° C à l'émergence imaginale, on devra observer la réapparition rapide de la fraction des particules inactivée par le jeu du premier processus. Les particules virales absorbées par les nouveaux récepteurs déclencheront un nouveau cycle de multiplication. Le "plateau" étant atteint en trois jours, cela suppose que cette multiplication a commencé aussitôt, sans qu'il y ait de période d'éclipse. Ceci peut s'expliquer en tenant compte de ce que l'on sait sur les cycles de multiplication amorcés par les préparations d'acide nucléique du virus de la Mosaïque du Tabac. Ceux-ci présentent une période d'éclipse plus courte que dans le cas de particules complètes du virus de la Mosaïque du Tabac (G. SCHRAMM et R. ENGLER, 1958), (A. SIEGEL, W. GINOZA et S.G. WILDMAN, 1957). Des résultats semblables sont rapportés par H. FRAENKEL-CONRAT et al. (1958 et 1959b). Il semble que, dans l'infection réalisée par les particules complètes de virus de la Mosaïque du Tabac, le premier stade soit le "déshabillage" de celles-ci (G. SCHRAMM et R. ENGLER, 1958, loc. cit.), le virus perdant sa coque protéique pour se transformer en virus végétatif. Si ce processus est réalisé pour σ^{*} au cours du chauffage nymphal, on doit bien s'attendre à ce que l'augmentation du rende-

ment en virus mûr commence très rapidement après le retour à 20° C.

L'interprétation de l'évolution à 20° C, du rendement de mouches ayant subi un traitement thermique commencé à la pupaison et étendu jusqu'au quinzième jour de la vie imaginale, fait appel à l'action de la température sur le virus végétatif. La thermosensibilité de celui-ci a été peu étudiée, cette forme de virus étant impossible à doser. On sait, malgré tout, qu'il peut être définitivement détruit par la chaleur. En effet, si des mouches s.v. inoculées avec un extrait virulent sont placées à 30° C peu de temps après l'injection, le dosage de ces mouches, nul à 30° C, reste nul lorsque celles-ci sont replacées à 20° C après un chauffage suffisamment long. Ph. L'HERITIER et A. SIGOT (1946) ont mis en évidence la destruction du virus végétatif à la suite de chauffages embryonnaires, d'individus issus du croisement ♀ s.v. x ♂ stabilisé. Ces auteurs ont obtenu régulièrement par ce moyen la "guérison définitive" des individus infectés ; les mouches écloses replacées à 20° C restent définitivement résistantes au CO_2.

Ce phénomène est-il le même que celui que j'ai invoqué pour rendre compte de l'existence de la "deuxième pente" des chauffages ? C'est vraisemblable. Dans ce cas, si le chauffage nymphal est prolongé pendant quatorze jours après le moment où l'ensemble du virus présent est sous la forme végétative, une grande partie de ce virus pourra être détruit. La remontée du titre, qui aura lieu à 20° C, nécessitera alors la réalisation d'un cycle viral déclenché par un petit nombre de particules végétatives. On sait que la période nécessaire pour atteindre le "plateau", quand on inocule des mouches s.v., est d'autant plus longue que l'inoculat est moins concentré en virus. Il est donc normal d'observer, dans ce cas, une multiplication assez lente. L'existence de certaines cellules dans lesquelles le virus a subi seulement l'inactivation réversible explique, de la même manière que précédemment, l'absence de période d'éclipse.

Cette hypothèse peut donc rendre compte des différents phénomènes observés au cours d'un chauffage nymphal de Drosophiles sensibles et du retour à 20° C qui lui fait suite. Elle rend compte également de la cinétique d'un autre type de chauffage intervenant, lui aussi, avant l'établissement du "plateau". Je veux parler des chauffages appliqués à des Drosophiles s.v. inoculées avec un extrait virulent et intervenant au cours des premiers jours qui suivent l'inoculation (cf. chap. II, p. 35). Si les mouches sont placées à 20° C, le virus végétatif, abondant, se multiplie tandis que l'on peut percevoir, en broyant les mouches, l'accumulation progressive du virus mûr. Dans le cadre de l'hypothèse citée plus haut, le virus végétatif étant détruit à 30° C, le virus mûr déjà formé pourra repasser à l'état végétatif pour occuper les récepteurs libérés. A l'inactivation progressive du virus mûr à 30° C, viendra donc s'ajouter la transformation de celui-ci en virus végétatif que nous ne pouvons doser. Ceci se traduira, évidemment, par une diminution du rendement en virus plus rapide que celle que l'on observe pour un chauffage intervenant après l'établissement du "plateau" où un grand nombre, sinon toutes les particules, ont atteint le stade de virus mûr. C'est bien, en effet, ce que nous avons observé dans l'expérience décrite à la page 37.

B. DIFFERENCES OBSERVEES SELON LE TYPE DE DROSOPHILES SENSIBLES.

Trois différences essentielles distinguent, nous l'avons vu, les mouches stabilisées des mouches non-stabilisées, en ce qui concerne le rendement en virus mûr et ses modifications sous l'action des chauffages. 1° - Le rendement des mouches stabilisées maintenues à 20° C est inférieur à celui des mouches non-stabilisées (différence d'environ 0,5 en unités logarithmiques). 2° - La pente (b_1) de la droite log. du rendement/temps au début du chauffage est égale à -0,55 pour les mouches stabilisées et à -0,26 pour les non-stabilisées (Chap. II, p. 32). 3° - Le niveau auquel remonte le rendement après retour à 20° C est supérieur à celui

du témoin pour les mouches du premier type, inférieur pour celles du second type (Chap. III, p. 73). Ces faits peuvent-ils s'interpréter dans le cadre des hypothèses examinées plus haut et peuvent-ils, éventuellement, permettre d'opérer un choix entre celles-ci ?

Avant d'en discuter, rappelons ce qui distingue l'état stabilisé de l'état non-stabilisé. G. BRUN et A. SIGOT (1955, loc. cit.) ont montré que c'est le type de relationsvirus/cellule-hôte qui est responsable des différences existant entre stabilisées et non-stabilisées, pour les trois points suivants : rythme d'accumulation du virus, rendement maximum, transmission de la sensibilité aux descendants. Les mouches stabilisées sont caractérisées par la présence d'une forme particulière du virus σ : le "virus génétique". Ce terme désigne "la ou les structures responsables de la continuité génétique de σ à travers les générations de Drosophiles stabilisées" (Ph. L'HERITIER, 1962, loc. cit.). La présence de virus génétique confère aux mouches une immunité partielle. La multiplication est freinée, ce qui aboutit à un rendement moins élevé en virus mûr. Le "virus génétique" existe certainement dans les cellules de la lignée germinale, mais, est-il présent ou non dans les cellules somatiques ? Dans l'affirmative, il entraîne l'immunité directement, au niveau cellulaire. Dans le cas contraire, son action peut être comprise en supposant l'existence d'une substance circulante.

Cette interprétation de la différence entre "plateaux" suivant le type de mouches, est valable dans chacune des trois hypothèses énoncées plus haut. Les faits eux-mêmes ne sont donc pas discriminants.

Notons que la présence de virus génétique, chez les mouches stabilisées, peut aussi expliquer le niveau rejoint à 20° C après chauffage. Rappelons qu'il est supérieur à celui des mouches témoin de ce type et atteint sensiblement celui que présentent, dans les mêmes conditions, des non-stabilisées. Il suffit, évidemment,

d'imaginer que le virus génétique est détruit par la chaleur, pour rendre compte de ce fait. En effet, cette destruction va tendre à lever l'immunité et le rendement pourra alors rejoindre le niveau des mouches congénitalement non-stabilisées. Que la température de 30° C fasse irréversiblement disparaître le virus génétique s'appuie sur des observations, réalisées par G. BRUN (communication personnelle), sur la lignée germinale de femelles stabilisées. En chauffant celles-ci, il a obtenu des descendants résistants s.v., alors que conservées à 20° C, ces mêmes Drosophiles présentaient une descendance entièrement sensible et stabilisée.

Examinons maintenant, tour à tour, les trois hypothèses et voyons comment les différences observées peuvent s'interpréter dans le cadre de chacune d'elles.

La première suppose, on s'en souvient, une récolte unique de particules virales. Le chauffage provoque leur destruction suivie, après retour à 20° C, d'une multiplication des survivants. La première différence, qui distingue les deux types de Drosophiles sensibles, est le niveau de leurs "plateaux" respectifs à 20° C. Nous venons de voir quelle interprétation peut en être donnée. Nous avons vu également pourquoi le rendement de mouches stabilisées, replacées à 20° C après chauffage, remontait plus haut que celui des mouches témoin. Le fait que, chez les mouches non-stabilisées, dans les mêmes conditions, le rendement n'atteint qu'un niveau inférieur à celui des mouches témoin s'explique également facilement dans le cadre de l'hypothèse. Ce "plateau" est le résultat d'une deuxième multiplication ; il semble donc assez normal qu'il y ait, au cours de ce phénomène, une certaine perte. Il nous reste, alors, à interpréter les vitesses différentes de disparition du virus mûr à 30° C, selon le type de mouches. Comme il a été dit plus haut, la pente de la droite log. du rendement/temps est plus forte pour les mouches stabilisées que pour les non-stabilisées (Chap. V, p. 114). Cette différence pourrait être une conséquence de la destruction du virus génétique. Celle-ci

libérerait des récepteurs qui absorberaient le virus mûr, l'amenant à repasser au stade végétatif. Celui-ci ne pouvant être dosé, le phénomène se traduira évidemment par une baisse de rendement. Au processus de disparition du virus mûr à 30° C, intervenant chez les Drosophiles non-stabilisées (virus détruit), s'ajoutera donc chez les stabilisées, la disparition du virus due à sa transformation en virus végétatif. Celui-ci pouvant être lui-même détruit par la chaleur (chap. V, p. 113), d'autres particules pourront être absorbées, à leur tour, par ces mêmes récepteurs, si le chauffage est suffisamment prolongé. Il est clair, dans ces conditions que la baisse de rendement provoquée par le chauffage, doit être plus rapide chez les mouches stabilisées que chez les non-stabilisées. L'hypothèse, récolte unique avec multiplication des survivants, permet donc de rendre compte, de manière assez satisfaisante, des différences observées entre les deux types de mouches.

La deuxième hypothèse est celle selon laquelle le "plateau" représente l'équilibre entre une production continue de virus et son inactivation spontanée irréversible, équilibre dont la température modifie les constantes. La différence entre les niveaux des "plateaux" à 20° C, selon le type de mouches, est, dans ce cas encore, en relation avec l'immunité relative conférée par le virus génétique. La destruction de celui-ci, par le traitement thermique, doit entraîner, de la même manière, une augmentation de rendement chez les Drosophiles stabilisées remises à 20° C après chauffage. Le nouvel équilibre s'établira, en effet, à un niveau plus élevé en raison de la disparition du virus génétique. Par contre, dans le cadre de cette hypothèse, il est difficile de comprendre la perte de rendement observée dans les mêmes conditions chez les non-stabilisées.

Comment peut-on interpréter la différence observée entre les deux types de mouches, dans la vitesse de disparition du virus mûr à 30 ° C ? Peut-on

invoquer à nouveau une absorption du virus mûr chez les mouches stabilisées du fait de la destruction du virus génétique ? Dans l'hypothèse du "turn-over", la chaleur, chez les mouches non-stabilisées, ne libère pas de récepteurs. Les cellules sont bien débarrassées de virus mûr, mais gardent leur capacité de fournir des particules infectieuses dès retour à 20° C. Les récepteurs sont, en fait, restés occupés. Ceci concerne évidemment le virus extractible, mais nous avons vu (chap. V, p.116) que pour le virus génétique il n'en va pas de même, puisque celui-ci est détruit par la chaleur. Ses récepteurs sont par conséquent libérés. Le raisonnement développé pour la première hypothèse, nous conduira ici encore à la conclusion que la présence du virus génétique, chez les mouches stabilisées, aboutit à une disparition du virus extractible plus rapide chez celles-ci que chez les non-stabilisées.

Venons-en, maintenant, à la troisième hypothèse et à l'interprétation qui peut, alors, être donnée des différences de réponse aux variations de température, chez les deux types de mouches sensibles. Rappelons qu'il s'agit du "turn-over", en quelque sorte superficiel, n'intéressant que l'enveloppe protéique du virus, tandis que le matériel génétique des particules virales, formé au cours de la multiplication initiale à 20° C, reste présent pendant toute la durée de la vie de la mouche.

Chaque cellule infectée comporte à la fois des particules mûres, infectieuses, et des particules sans enveloppe ou à enveloppe incomplète. Imaginons qu'à l'échelle cellulaire, la différence entre mouches stabilisées et non-stabilisées réside dans les proportions des deux types de particules en présence, le nombre total de particules (infectieuses et non-infectieuses) pouvant être le même dans les deux cas. Si, par exemple, dans les cellules stabilisées, l'équilibre s'établit pour trois particules infectieuses contre sept non-infectieuses, et, dans les cellules non-stabilisées pour neuf particules du premier type contre une du second, ceci

TABLEAU XXIII. Modèle théorique montrant l'action des traitements thermiques sur le contenu en virus des mouches stabilisées et non-stabilisées, dans l'hypothèse selon laquelle la température agit en faisant varier la vitesse des réactions de maturation et d'absorption des particules.

	Nbre total particules par cellule.	Mouches stabilisées		Mouches non-stabilisées	
		x	o	x	o
Témoin, avant chauffage	1 000	300	700	900	100
Fin chauffage	900	10	890	90	810
Retour à 20° C	900	810	90	810	90

x particules virales infectieuses.

o particules virales non-infectieuses.

Les chiffres sont purement théoriques. Ils ont été choisis pour être en accord avec ce que nous connaissons, des rendements relatifs des Drosophiles stabilisées et non-stabilisées, et, de la vitesse de disparition du virus extractible dans ces deux types de mouches sensibles. Ils ne peuvent reposer sur des données expérimentales, d'une part, parceque l'on ne sait rien du rendement en virus mûr des cellules individuelles, d'autre part, parcequ'il n'est pas possible d'extraire et par conséquent de doser le virus non-infectieux.

---

par la température sur l'acide nucléique viral n'est pas une partie essentielle de l'hypothèse. Elle a été imaginée pour rendre compte de l'existence de la deuxième pente dans les courbes log. du rendement/temps à 30° C. Cette deuxième pente peut relever, en fait, d'interprétations différentes et correspondre, elle aussi, à un phénomène réversible. Cependant, si tel était le cas, il serait plus difficile d'expliquer le niveau atteint à 20° C après chauffage par les

mouches non-stabilisées (niveau inférieur au niveau témoin).

Il reste à voir comment s'expliquent, dans le cadre de la troisième hypothèse, les vitesses différentes de disparition du virus mûr à 30° C, selon le type de Drosophiles sensibles considéré. Il suffit d'imaginer, qu'à toute température, les vitesses des réactions (maturation et réabsorption) sont plus grandes chez les mouches stabilisées que chez les non-stabilisées, pour expliquer la différence observée. En fait, cette seule supposition permet de rendre compte, à la fois, de la différence des niveaux initiaux entre les deux types de Drosophiles sensibles et de la différence de vitesse de disparition du virus mûr, lorsque les conditions de température changent.

C. CONCLUSION.

Il semble qu'à la lueur de tout ce qui précède, un choix soit possible parmi les trois hypothèses proposées.

Celle qui suppose l'existence à 20° C d'un "turn-over" tel qu'à chaque instant une certaine quantité de particules virales sont détruites, tandis que d'autres sont formées en quantité équivalente, sera éliminée en raison des nombreux faits qu'elle ne peut expliquer. Il s'agit essentiellement, nous l'avons vu, de l'allure de la courbe de "passage au germen", du niveau du "plateau" atteint à 20° C, après chauffage, par les mouches non-stabilisées (niveau inférieur à celui du témoin). D'autre part, cette hypothèse suppose une situation exceptionnelle en virologie : celle de cellules ne se divisant pas et produisant du virus d'une manière continue pendant une période très prolongée. Enfin, une autre donnée tend, elle aussi, à faire rejeter cette hypothèse, c'est le fait que la 5-fluoro-désoxy-uridine (FUDR), qui freine la multiplication du virus σ après son inoculation dans la Drosophile, n'exerce d'action, ni sur le rendement des mouches maintenues à 20° C, ni sur la vitesse avec laquelle le virus mûr réap-

paraît dans des mouches remises à 20° C après un traitement thermique.

Une autre hypothèse supposait une récolte unique de particules virales restant présentes à 20° C, une fois formées, tout au long de la vie de la mouche. A 30° C, celles-ci étaient détruites, mais, après retour à 20° C, une nouvelle multiplication se produisait à partir des survivants. Un certain nombre de faits sont difficiles à comprendre dans le cadre de cette hypothèse. Il s'agit d'abord des modalités du retour au "plateau" lorsque cesse un traitement thermique. L'augmentation du rendement ne comporte pas de temps de latence et sa durée, indépendante de la longueur du chauffage, ne dépasse pas trois jours, même lorsque le rendement était, apparemment, nul lors de la remise à 20° C des Drosophiles. Ces faits cadrent assez mal avec ce que l'on connait de la multiplication du virus σ^-. En outre, le manque d'action de FUDR, sur cette réapparition du virus mûr, ne s'explique pas mieux que dans la première hypothèse. Enfin, l'échec de la surinfection, après un chauffage imaginal, est, elle aussi, difficile à expliquer.

Reste la dernière hypothèse proposée qui suppose, à 20° C, l'existence d'un équilibre statistique entre les réactions de "maturation" et de "réabsorption" des particules, l'acide nucléique des particules virales étant formé une fois pour toutes dès l'établissement du "plateau". Nous avons vu qu'elle rend compte avec un minimum de suppositions de l'ensemble des faits observés à l'occasion des traitements thermiques. Elle permet, en outre, d'expliquer l'effet sur le rendement en virus d'un jeûne protéique (P. PRINTZ, communication personnelle). Des mouches stabilisées et non-stabilisées (mouches inoculées au stade imago) ont été placées à 20° C, dans des tubes ne contenant que du coton hydrophile imbibé d'une solution de saccharose. Le rendement a été suivi, dans les deux cas, par le procédé habituel. On a pu observer une baisse qui semble bien être plus rapide chez les mouches stabilisées que chez les non-stabilisées. Les données sont insuf-

fisantes pour conclure avec certitude à l'existence éventuelle de deux pentes différentes dans la courbe log. du rendement/temps. Mais, on a pu observer également, tout au moins dans le cas des mouches stabilisées, que le rendement tendait à remonter au niveau du témoin lorsque les mouches étaient à nouveau normalement alimentées.

L'analogie entre l'action du jeûne protéique et celle de la chaleur est frappante. La dernière hypothèse proposée peut, évidemment, en rendre compte de manière satisfaisante. Privée de source de protéine, la mouche, une fois utilisées ses réserves[(1)], ne peut plus synthétiser les protéines virales et le rendement doit baisser. La première hypothèse, au contraire, rend explicable l'action du jeûne. En effet, si le "plateau" observé à 20° C résulte d'une récolte unique de particules, on voit mal comment le jeûne protéique peut exercer une action sur le rendement de la mouche en virus. Par contre, la seconde hypothèse : existence à 20° C d'un "turn-over" nucléique et protéique, est évidemment conciliable, elle aussi, avec l'effet du jeûne.

Si l'hypothèse retenue cadre avec les aspects principaux du phénomène, deux de ses conséquences ne semblent toutefois pas être confirmées clairement par les résultats expérimentaux. La première concerne le niveau du "plateau" atteint, après retour à 20° C, par les mouches chauffées. Prenons le cas des mouches non-stabilisées, plus simple que celui des stabilisées. Dans notre hypothèse, nous avons attribué la différence, par rapport au niveau témoin, à un processus d'inactivation irréversible de l'acide nucléique viral. S'il en est ainsi, il est bien évident que la différence doit être d'autant plus grande que le

---

(1) La baisse du rendement chez les mouches soumises au jeûne n'apparaît qu'après cinq ou six jours (P. PRINTZ, communication personnelle).

chauffage a été plus prolongé. Les résultats expérimentaux disponibles ne fournissent pas sur ce point des indications très claires. Très peu d'expériences ont été réalisées, comportant des retours à 20° C effectués à la suite de chauffages, commencés au même moment mais de durée différentes. D'autre part, nous avons vu (Chap. II, p.28) que les déterminations de rendement, réalisées à partir de mouches âgées donnaient parfois des résultats anormalement bas, à 30° C comme à 20° C. Aussi, un écart plus grand entre le "plateau" témoin et le "plateau" de remontée, à la suite d'une chauffage de longue durée, ne peut pas être interprété avec certitude comme étant la conséquence de l'action prolongée du chauffage sur le virus, car, il peut tout aussi bien être lié au mauvais état physiologique des mouches. Les seules données utilisables pour la présente discussion sont fournies par une expérience réalisée avec des mouches issues du croisement ♀ s.v. x ♂ stabilisés (tableau XVII, p. 72 , Exp. I). Le "plateau" témoin présente un niveau moyen de $\bar{x} = 3,82 \pm 0,10$. Les trois "plateaux" atteints à 20° C après chauffage atteignent les valeurs suivantes :

- après 7 jours de chauffage $\bar{y} = 3,64 \pm 0,12$
- " 14 " " " $\bar{y} = 3,63 \pm 0,09$
- " 21 " " " $\bar{y} = 3,46 \pm 0,13$.

Il n'y a donc pas de différence entre les "plateaux" obtenus à 20° C après des chauffages de sept et de quatorze jours. Après un chauffage de vingt-et-un jours, par contre, le "plateau" moyen semble bien être un peu bas, mais, la différence n'est manifestement pas significative. A défaut d'observations plus nombreuses, il est difficile de conclure dans un sens ou dans l'autre. Les résultats expérimentaux ne mettent pas en évidence une liaison entre la durée du chauffage et le niveau auquel les mouches remontent par la suite. Ils ne permettent cependant pas non plus d'affirmer que cette liaison n'existe pas.

La seconde conséquence de l'hypothèse retenue, qui n'est pas vérifiée par les faits, ne s'interprète pas d'une manière plus satisfaisante dans le cadre des deux autres hypothèses. Nous avons supposé qu'après chauffage et retour à 20° C, les mouches stabilisées ayant perdu leur virus génétique sont, en fait, transformées en mouches non-stabilisées. Le rendement de ces mouches est d'ailleurs conforme à cette supposition. Mais, dans cette éventualité, il est évident qu'un second traitement thermique, intervenant par la suite, devrait présenter les caractéristiques des chauffages de mouches non-stabilisées. Or, ce type d'expérience a été réalisé à cinq reprises différentes (cf. tableau IV, p. 29). Dans quatre d'entre elles, le deuxième chauffage a provoqué la disparition du virus selon la cinétique à deux pentes habituelle[1]. Les pentes des premiers segments sont :

I B. - 0,50 ± 0,10

II E. - 0,53 ± 0,06

III I. - 0,70 ± 0,03

III J. - 0,94 ± ?

Etant données les valeurs moyennes caractéristiques des stabilisées et des non-stabilisées (b_1 = -0,55 ± 0,03 et b_1 = -0,26 ± 0,01), on voit que les quatre pentes appartiennent sans conteste au type stabilisé. Notons, cependant, que le rapprochement n'est valable que si un deuxième chauffage, appliqué à des non-stabilisées, fournit la même pente faible qu'un premier traitement. Il semble que ce soit le cas. Dans une expérience ayant porté sur des mouches issues du croisement ♀ s.v. x ♂ stabilisé (tableau V, p. 30). Les pentes des premiers segments

---

(1) La cinquième (III K) n'a donné qu'une seule pente. Le cas a déjà été discuté (Chap. II, p. 29).

de droite, des premier et deuxième chauffages, ont été respectivement de :

Ia. - 0,16 ± 0,02

Ib. - 0,12 ± 0,06 (1).

Il semble donc que, malgré le rendement élevé atteint par les mouches replacées à 20° C après traitement à 30° C, une des conséquence, au moins, de l'état stabilisé n'ait pas été supprimée. Les différences dans les relations virus-cellules, qui distinguent les mouches des deux types, n'ont donc pas été complètement abolies par le traitement thermique. Aucune des hypothèses présentées ne permet pour le moment de rendre compte de ce fait. Il y a là un aspect de mes observations qui nécessitera de nouvelles recherches.

---

(1) Deux autres chauffages ont donné des pentes plus fortes, quoique toujours inférieures au chiffre caractéristique des mouches stabilisées. Elles concernent des mouches très âgées (vingt-sept et vingt-neuf jours au début des chauffages) et ne peuvent être prises en considération pour des raisons déjà exposées.

-----oo0oo-----

CHAPITRE VI

COMPARAISON ENTRE L'ACTION EXERCEE, PAR LE CHAUFFAGE, SUR LE VIRUS σ⁻ DE LA DROSOPHILE ET SUR D'AUTRES VIRUS OU PARTICULES CYTOPLASMIQUES, IN VIVO.

Il existe, dans la nature, des situations biologiques à plusieurs points de vue comparables à celle des Drosophiles sensibles au CO_2. Le rapprochement a déjà été fait avec les Paramécies "killers" (T.M. SONNEBORN, 1959 ; Ph. L'HERITIER, 1948, 1958), avec les Drosophiles "sex-ratio" (G.E. MAGNI, 1952, 1956) et avec les insectes vecteurs de certains virus pathogènes pour les plantes (Ph. L'HERITIER, loc. cit., K. MARAMOROSCH, 1958 etc ...). Dans chacun de ces cas, des traitements thermiques ont été appliqués aux animaux. Les effets de ces chauffages rappellent à première vue ceux que j'ai pu, moi-même, observer chez la Drosophile sensible et qui ont été exposés au cours des chapitres précédents.

On sait que la présence de "particules kappa", dans certaines souches de Paramécies, détermine le caractère "killer" des Paramécies hôtes. Ces animaux libèrent, dans leur milieu de culture, un agent toxique capable de tuer les animaux "sensibles" (dépourvus de particules kappa). La véritable nature des particules kappa reste très discutée, la plupart des auteurs les considèrent comme des organismes symbiotiques qui semblent "intermédiaires entre les virus et les bactéries" (T.M. SONNEBORN, 1959). Or, les différents traitements thermiques utilisés ont montré que le chauffage aboutit à une diminution de la concentration en particules des Paramécies-hôte, diminution qui peut aller jusqu'à leur disparition complète.

Ce résultat est dû à deux processus différents. Tout d'abord, l'élévation de la température au-dessus de la température normale d'élevage des Paramécies (27° C) provoque un décalage entre la vitesse de reproduction des particules et la vitesse de fission des animaux. La première augmente moins que la seconde (T.M. SONNEBORN, 1947). Ceci aboutit à l'apparition de Paramécies dépourvues de particules et par conséquent "sensibles", dans des lignées où tous les animaux sont normalement "killers". Ce phénomène rappelle évidemment ce que l'on observe chez les Drosophiles sensibles au CO_2, lorsque celles-ci sont chauffées pendant une période de multiplication cellulaire, où il semble, nous l'avons vu, que certaines cellules nouvellement formées soient dépourvues de virus σ.

Mais, la concentration en particules kappa est affectée par la température, même en l'absence de fission. La disparition des particules peut être totale dans ces conditions, ce qui prouve que la chaleur exerce sur les particules un effet de destruction direct (T.M. SONNEBORN, 1946). L'inactivation est d'autant plus importante que le chauffage a été plus long et le processus observé en l'absence de division de la cellule-hôte est irréversible. En effet, chez les Paramécies "killers" placées à 38,5° C, T.M. SONNEBORN (1946, loc. cit.) a observé les faits suivants. Après douze heures de traitement, les animaux sont tous devenus phénotypiquement sensibles, mais tous possèdent des particules kappa et produiront après autogamie des descendants "killers". Après vingt-quatre heures du même traitement, tous les animaux sont bien entendu sensibles, mais, en outre, soixante-dix-sept à quatre-vingt-dix-sept pour cent d'entr 'eux ont perdu irréversiblement kappa et auront donc des descendants totalement sensibles. Enfin, après trente-six heures, la disparition de kappa est complète et définitive, tous les clones issus des survivants seront sensibles.

Chez la Paramécie, il suffit donc de prolonger le traitement pour que la

"guérison provisoire" se transforme en "guérison définitive". Celle-ci semble être seulement l'aboutissement du processus qui a d'abord conduit à la guérison provisoire.

Il semble qu'il y ait donc, là, une grande différence avec l'effet du traitement thermique sur la Drosophile sensible. Aussi longtemps qu'on les prolonge, les chauffages qui ont déterminé la "guérison provisoire" des Drosophiles sensibles au CO_2 n'aboutiront jamais à la "guérison définitive". D'autre part, le nombre de particules virales infectieuses présentes chez les Drosophiles sensibles au moment du chauffage est également sans rapport avec le type de guérison provoquée. (Le chauffage d'oeufs stabilisés, qui contiennent un très petit nombre de particules virales, n'aboutira pas plus que le chauffage des imagos, qui en comportent un beaucoup plus grand nombre, à une guérison définitive).

La "guérison provisoire", mise en évidence chez les Drosophiles sensibles, ne semble pas correspondre aux faits observés chez les Paramécies. La comparaison, qui s'imposait entre les deux situations découle d'une analogie superficielle qui recouvre, en fait, des phénomènes très différents.

Les lignées de Drosophila bifasciata sex-ratio, étudiées par G.E. MAGNI, sont caractérisées par l'absence presque totale de mâles dans la descendance. Pour entretenir la souche, il faut à chaque génération faire appel à des mâles normaux. Ceux-ci, croisés avec des femelles s.r., donnent naissance à des femelles présentant le caractère sex-ratio et à quelques rares mâles qui sont normaux. En fait, tous les oeufs pondus sont fertilisés, mais les embryons XY meurent au cours des premiers stades de leur développement (G.E. MAGNI, 1959). L'agent responsable du caractère sex-ratio ("particules s.r.") serait présent dans les cellules de Drosophiles de la souche s.r. à un certain nombre d'exemplaires. Un seuil minimum serait indispensable à la manifestation du caractère (G.E. MAGNI, 1956).

La distribution au hasard de ces particules entre les cellules-filles, dans la lignée germinale des Drosophiles femelles s.r., pourra aboutir de temps à autre à la formation d'un ovule dans lequel le nombre de particules sera inférieur au "seuil". Fécondé par un spermatozoïde Y, l'ovule aboutira alors à un zygote mâle qui pourra se développer normalement. Fécondé par un spermatozoïde X, il donnera naissance à une femelle normale.

Dès 1952, il apparut que la température avait une action très nette sur la manifestation du caractère sex-ratio (G.E. MAGNI, 1952). En effet, les cultures de ♀ bifasciata s.r. x ♂ bifasciata normaux, effectuées à 26° C (la température normale d'élevage étant de 21° C) donnent naissance à une descendance dans laquelle le pourcentage de mâles est proche de la normale. Mais, si les femelles ainsi traitées sont ensuite replacées à 21° C, le rapport des sexes dans la descendance rejoint aussitôt la valeur typique des lignées sex-ratio.

Des différentes expériences de chauffage réalisées par G.E. MAGNI, il ressort que le traitement thermique n'agit pas de la même manière aux différents stades de la vie de la Drosophile. En fait, seuls sont efficaces les chauffages appliqués au cours du développement du zygote (G.E. MAGNI, 1952, 1953, 1956).

Les chauffages embryonnaires autorisent l'éclosion des larves mâles, mais, un grand nombre de celles-ci meurent avant l'émergence imaginale. Au contraire, les chauffages commencés au stade embryonnaire et prolongés jusqu'à l'émergence imaginale permettent d'obtenir un nombre normal de mâles adultes.

L'auteur pense qu'à 26° C, le rythme de production cellulaire de l'embryon est accéléré, tandis que la particule s.r. continue à se reproduire à son rythme normal. Il s'ensuit une diminution du nombre de particules par cellule, qui peut ainsi descendre au dessous du seuil d'efficacité.

Pour expliquer la mort, à 21° C, des pupes préalablement chauffées austa-

de embryonnaire et apparemment guéries, G.E. MAGNI (1956, loc. cit.) émet une hypothèse selon laquelle la "dose létale" serait différente à ces deux stades du développement de la Drosophile. Le chauffage embryonnaire abaisserait le nombre de particules par cellule, de telle manière que le développement de la larve soit possible. Ce nombre resterait constant après retour des animaux à 21° C[(1)], mais la"dose létale" étant plus faible pour la nymphe, celle-ci mourrait avant l'émergence imaginale.

Dans quelle mesure ces phénomènes peuvent-ils être comparés à ceux qui résultent du chauffage des Drosophiles sensibles au CO_2 ? Il est évidemment tentant de comparer l'action du chauffage embryonnaire chez les Drosophiles sensibles au CO_2 et chez les Drosophiles sex-ratio. Chez celles-ci,les larves replacées à 21° C meurent par la suite, tandis que,chez les premières,le rendement en virus des grosses larves est très élevé. Une interprétation, voisine de celle proposée pour les Drosophiles sensibles, pourrait à première vue convenir chez les Drosophiles sex-ratio. Elle consisterait à admettre que les particules s.r. seraient capables de se multiplier dans la larve replacée à 21° C, de manière à atteindre à nouveau la dose létale, celle-ci étant la même aux différents stades de développement de l'insecte.

En l'absence d'une méthode de dosage des particules s.r. il est bien difficile de vérifier ou de rejeter cette hypothèse.

Rappelons que les chauffages des individus issus du croisement ♀ stabi-

---

(1) G.E. MAGNI pense, en effet, que la vitesse de reproduction des particules, à 21° C, est étroitement liée au rythme de la reproduction cellulaire de l'hôte. Il écarte la possibilité que le nombre de particules/cellule augmente lors du retour à 21° C, du fait d'une augmentation de la vitesse de reproduction de celles-ci.

lisée x ♂ s.v., appliqués aux stades embryonnaire, larvaire et pupal consécutifs, ne donnent jamais de guérison définitive (Ph. L'HERITIER et A. SIGOT, 1946, loc. cit.), contrairement au cas des chauffages d'individus s.r.

Les phénomènes observés dans les deux cas sont donc fort différents. Les données actuelles ne permettent nullement de penser que l'action de la température soit identique, dans le cas de la Drosophile sensible au CO_2 et dans celui de la Drosophile sex-ratio.

Le cas des insectes vecteurs, responsables de la transmission de certaines viroses végétales est connu depuis fort longtemps. On a pu prouver que, pour certains virus au moins (virus du rabougrissement du riz, T. FUKUSHI, 1933, 1939, (1) ; virus du trèfle à petites feuilles, L.M. BLACK, 1950 ; virus de la tumeur de blessure, L.M. BLACK et M.K. BRAKKE, 1952, et, WHITCOMB et L.M. BLACK, 1961 ; virus de la jaunisse de la Reine-marguerite, K. MARAMOROSCH, 1952 ; virus du rabougrissement du maïs, K. MARAMOROSCH, 1954), le vecteur ne se contente pas de transporter, d'une plante à l'autre, le virus qu'il a pu acquérir sur l'une d'elles, mais est le siège d'un cycle de multiplication virale. Pour quelques uns d'entre eux, le virus est également transmis chez le vecteur d'une génération à l'autre par l'oeuf. C'est le cas, en particulier, pour le virus du rabougrissement du riz (T. FUKUSHI, loc. cit.), pour celui du trèfle à petites feuilles (L.M. BLACK, 1948), celui de la tumeur de blessure (L.M. BLACK, 1953b) et celui du nanisme jaune de la pomme de terre (L.M. BLACK, 1953b). Tous ces virus peuvent être transmis également par inoculation (K. MARAMOROSCH, 1952, 1953a, b, c). Or, les traitements thermiques, appliqués à ces insectes vecteurs, aboutissent à des résultats qui,

---

(1) Cité par L.M. BLACK, 1953a, 1959 et d'autres auteurs.

eux aussi, peuvent être comparés à l'action du chauffage sur les Drosophiles sensibles au CO_2. L.O. KUNKEL (1937) en chauffant les insectes vecteurs du virus de la jaunisse de la Reine-marguerite (Cicadula sexnotata) rapporte les faits suivants. Les insectes placés à 32° C deviennent incapables de transmettre le virus (dès le deuxième jour du chauffage), mais, la transmission redevient possible lorsqu'ils sont replacés à une température plus basse (24° C) après des chauffages courts. Si le chauffage s'est étendu sur douze jours au moins, la "guérison" est définitive. Les insectes testés quotidiennement jusqu'à leur mort (quarante jours après leur retour à 24° C) n'ont transmis le virus à aucune des plantes-test. Pour les chauffages moins longs, l'auteur observe que le délai, qui s'écoule entre la fin du traitement thermique et le moment où l'insecte devient à nouveau capable de transmettre le virus est d'autant plus long que le chauffage a duré plus longtemps. La chaleur doit donc détruire le virus. Après les traitements inférieurs à douze jours, les particules survivantes se multiplient à 24° C, pour atteindre à nouveau la concentration suffisante pour que l'insecte puisse transmettre le virus. Le temps nécessaire à cette multiplication est évidemment d'autant plus long qu'il restait moins de particules virales à la fin du traitement thermique, c'est-à-dire, d'autant plus long que celui-ci était plus étendu. L'effet du chauffage est encore plus spectaculaire lorsqu'il est appliqué au cours de la période d'incubation du virus dans son vecteur. La "guérison définitive" est en effet obtenue dans ce cas, après des chauffages de trois jours seulement. L'auteur pense que ce fait s'explique par le nombre moins grand de particules virales présentes, qui sont alors détruites en totalité, dans un laps de temps plus court.

K. MARAMOROSCH (1950) a réalisé, lui aussi, des chauffages d'insectes vecteurs au cours de la période d'incubation du virus. Il s'agit d'Agallia acuminata, vecteur du virus de la tumeur de blessure. Les insectes, après s'être nourris

sur du trèfle incarnat virosé, sont placés à différentes températures. Les conditions optima, correspondant à la plus courte période d'incubation (treize - quinze jours) et à la transmission la meilleure, se situent entre 26 et 32,5° C. A 37° C, on n'obtient jamais d'infection des plantes-test.

Le chauffage de ces virus dans leurs hôtes a donc ici, comme chez la Drosophile sensible, un effet très net. Toutefois, les phénomènes observés chez les insectes vecteurs sont explicables par la destruction des particules virales par la chaleur et la multiplication des "survivants", lorsque la température redevient normale[1]. Nous avons vu que, dans le cas de la Drosophile, cette hypothèse ne peut être adoptée pour expliquer la disparition et la réapparition du virus infectieux.

En conclusion, il semble donc que l'action réversible de la chaleur sur le virus σ⁻ dans son hôte soit fort différente des phénomènes évoqués au cours de ce chapitre. Chez les Paramécies comme chez les insectes vecteurs, il est facile de débarrasser totalement les organismes hôtes des particules qui leur conféraient les propriétés ci-dessus décrites. Par contre, chez la Drosophile, une fois le cycle de multiplication du virus σ⁻ terminé, ceci est totalement impossible à réaliser, même par des traitements thermiques prolongés[2]. L'action de la température sur les particules kappa et sur les virus des insectes vecteurs

---

(1) Il faudrait citer aussi les nombreuses recherches effectuées sur l'action de la température sur les viroses de plantes, dont on trouvera une revue dans B. KASSANIS, 1957. Là encore, on peut souvent obtenir des 'guérisons définitives' par la chaleur.

(2) Nous avons vu que les seuls cas de 'guérison définitive' observés chez la Drosophile sont dus à l'action de la température sur le virus génétique (Chap. V, p. 116) et sur le virus végétatif (Chap. V, p.113). Contrairement au virus infectieux, ceux-ci sont détruits par le chauffage.

semble bien être une destruction irréversible. La réapparition des symptômes, quand elle a lieu, peut être expliquée par la multiplication des "survivants".

Reste le cas des Drosophiles s.r. étudié par G.E. MAGNI. L'interprétation des phénomènes donnée par l'auteur est, elle aussi, différente de celle qui convient dans le cas des Drosophiles sensibles au CO_2. De toute manière, les phénomènes sont difficilement comparables, les expériences réalisées dans les deux cas ayant été fort différentes. Il n'est peut être pas impossible que le chauffage des imagos de Drosophila bifasciata sex-ratio ait une action sur les particules s.r. qu'elles contiennent. En l'absence d'une technique de dosage appropriée de celles-ci, le phénomène aurait pu passer inaperçu. De toutes façons, cette action pourrait être fort différente de celle exercée par la chaleur sur o^-. De plus, la guérison définitive observée chez Drosophila bifasciata n'a pas son analogue chez la Drosophile sensible au CO_2. Rien ne permet donc de dire que la chaleur a, dans les deux cas, la même action.

L'action du chauffage sur les maladies à virus a été également étudiée par d'autres auteurs, chez des organismes fort différents de ceux dont nous venons de parler. Les infections virales des mammifères s'accompagnent le plus souvent d'une augmentation de la température de l'hôte. On peut penser que celle-ci peut avoir une action sur l'évolution de la maladie (A. LWOFF et M. LWOFF, 1958). Ces auteurs ont pu montrer que le développement du virus de la poliomyélite dans des cultures de cellules humaines était bloqué à 39° C (développement "normal" à 37° C). Dans d'autres expériences, réalisées par ces mêmes auteurs, des souris ont été infectées avec du virus de la poliomyélite (type II. MEF 1). Tous les animaux conservés à 20° C (température interne de l'animal : 37°-38° C) sont morts entre le cinquième et le douzième jour. Parmi les animaux placés à 36,5° C (températu-

re interne : 39°-40,3° C), un nombre important d'entre eux a présenté une mortalité retardée, tandis que d'autres (10/25 dans une expérience, 10/20 dans l'autre) ont survécu très longtemps après la fin du traitement thermique. Le déplacement du "chauffage", par rapport à l'inoculation, montre qu'une souris peut encore être sauvée si celui-ci commence le deuxième jour qui suit l'inoculation (A. LWOFF, P. TOURNIER et J.P. CARTEAUD, 1959). De la même manière, l'hyperthermie diminue la sévérité de l'encéphalomyocardite expérimentale de la souris, consécutive à l'inoculation de variants "froids"(1) de ce virus (Y. PEROL-VAUCHEZ, P. TOURNIER et M. LWOFF, 1961)(2).

L'élévation de la température se révèle donc, dans tous ces cas, avoir une action "anti-virale" très nette. Toutefois, il faut noter que les travaux cités dans le cas des mammifères ont trait à l'action de la température sur le développement viral (action sur la phase végétative du virus), mais ne concerne pas l'inactivation des particules virales produites par les cellules de l'hôte. S'il faut donc comparer ces résultats expérimentaux à ceux que j'ai obtenus chez la Drosophile sensible, la comparaison ne peut porter que sur l'action de la température sur le virus végétatif. La multiplication de σ⁻ s'est révélée elle être aussi bloquée par l'élévation de la température. En effet, les mouches inoculées avec un extrait virulent, placées à 30° C, ne sont le siège d'aucune multiplication virale. Celle-ci, de la même manière, est simplement retardée si le séjour

---

(1) Les variants "froids" sont sélectionnés par des passages successifs de la souche originelle sur cultures de tissus entretenues à basses températures.

(2) D'autres auteurs (cités par A. LWOFF, 1959) ont également mis en évidence une action de la température sur d'autres viroses animales (R.L. THOMSON, 1930 : chez des lapins inoculés avec du virus du myxome ; ARMSTRONG, 1942 : chez des souris infectées par du virus herpétique ; D.L. WALKER et W.D. BORING, 1958 : chez des souris infectées avec du virus coxsackie).

à 30° C est très court. La comparaison ne peut guère être poussée plus loin.

On voit donc que, si la température a presque toujours sur les virus in vivo et in vitro une action nette, celle-ci peut correspondre à des phénomènes fort différents.

La température agit sur le virus σ⁻ sous toutes ses formes. Le virus génétique chauffé in vivo subit une inactivation irréversible. Ce phénomène étudié par G. BRUN (thèse de doctorat) a été accessoirement mis en évidence au cours de mes expériences. Il est responsable du rendement en virus particulièrement élevé, atteint après retour à 20° C, par les mouches stabilisées chauffées (Chap. V, p. 119). Le virus végétatif est, lui aussi, détruit à 30° C : nous avons dit en effet que les chauffages des embryons issus du croisement ♀ s.v. x ♂ stabilisé étaient définitivement guéris et que, d'autre part, il n'y avait pas de multiplication virale chez les mouches inoculées placées à 30° C. Ce type d'action de la température sur le virus est classique et nous en avons cité plusieurs exemples.

Par contre, la réponse de la forme infectieuse de σ⁻ aux traitements thermiques est tout à fait particulière ainsi qu'il a été exposé au cours des chapitres précédents. Cette action réversible du chauffage sur le virus in vivo semble être un phénomène exceptionnel, dont on ne connaît pas, pour l'instant, d'autre exemple.

-----ooOOoo-----

RESUME.

La multiplication du virus σ^- , qui détermine la sensibilité au CO_2 des Drosophiles hôte , suit à 20° C une évolution caractéristique qui aboutit, dans tous les cas, à la stabilisation du rendement. Le "plateau" ainsi atteint se maintient jusqu'à la mort de la Drosophile.

L'action d'une élévation de la température, sur le rendement en virus de Drosophiles sensibles au CO_2 a été étudiée chez les deux types de mouches sensibles : stabilisées et non-stabilisées. Dans chacun des cas, on a fait varier la durée et l'emplacement du chauffage. Le rendement a été suivi aussi bien au cours du traitement thermique (30° C) qu'après retour des mouches à leur température normale d'élevage (20° C).

L'ensemble des phénomènes observés est, à première vue, semblable dans les deux types de mouches sensibles ; des différences secondaires importantes ont cependant été mises en évidence.

1° - Phénomènes provoqués par le chauffage des Drosophiles et communs aux deux types de mouches sensibles, stabilisées et non-stabilisées.

a) A 30° C, le rendement en particules infectieuses diminue au cours du temps.

b) Cette évolution suit une cinétique particulière. Les courbes log. du nombre de particules virales par mouche/temps présentent toujours deux segments linéaires successifs, de pentes différentes. La première pente est plus forte que la seconde.

c) Dès retour à 20° C des mouches traitées et quelqu'ait été la durée du chauffage, le rendement remonte pour se fixer à un niveau élevé qui restera constant par la suite.

d) La baisse de rendement observée à 30° C est plus importante, lorsque le chauffage est appliqué à des Drosophiles chez lesquelles le "plateau" n'est pas encore établi.

2° - Différences observées dans la réponse au traitement thermique selon le type de mouches sensibles chauffées.

a) La "première pente", qui traduit la diminution du rendement des Drosophiles au début du traitement thermique,est plus forte chez les mouches stabilisées que chez les non-stabilisées.

b) Le niveau du rendement atteint après retour à 20° C est supérieur à celui des Drosophiles témoin non chauffées dans le cas des stabilisées, inférieur dans le cas des non-stabilisées.

Trois hypothèses sont proposées pour rendre compte de l'ensemble de ces faits. Elles sont reliées à l'interprétation du "plateau" observé à 20° C chez les Drosophiles infectées.

Celui-ci pourrait traduire une "récolte unique" du virus. Après la phase d'accumulation rapide du virus mûr, les particules infectieuses formées resteraient présentes pendant toute la vie de la Drosophile conservée à 20° C. Le traitement thermique détruirait le virus (diminution du rendement à 30° C). Les particules,ayant survécu au chauffage pourraient provoquer un nouveau cycle de multiplication à 20° C (augmentation du rendement après retour à 20° C).

Le "plateau" pourrait aussi correspondre à un équilibre dynamique entre la formation et la destruction de particules virales. Le chauffage modifierait les vitesses des deux réactions. Si la première est freinée à 30° C, ou la deuxiè-

me accélérée, ou si la température agit à la fois sur les deux réactions, on doit évidemment s'attendre à la baisse de rendement effectivement observée. Le retour à 20° C des Drosophiles, en ramenant les conditions initiales du "turn-over", provoquerait l'augmentation du rendement et le rétablissement de l'équilibre.

Ces deux hypothèses sont discutées et finalement rejetées, certaines de leurs conséquences sont en effet en désaccord, soit avec les résultats expérimentaux rapportés dans ce mémoire, soit avec d'autres données concernant les relations de σ^- avec son hôte.

L'interprétation retenue est la suivante. Le matériel génétique des particules serait formé dès l'établissement du "plateau" à 20° C et resterait ensuite présent pendant toute la durée de la vie de la mouche. Il n'en serait pas de même pour l'enveloppe protéique de la particule. Deux types de particules existeraient à 20° C dans la Drosophile. Les unes, complètes, seraient infectieuses ; les autres, auxquelles manqueraient une partie au moins de l'enveloppe protéique, non-infectieuses. Tout au long de la vie de la Drosophile, il y aurait transformation d'une forme dans l'autre. A 20° C, l'équilibre entre ces deux réactions, maturation et réabsorption, se traduirait par le "plateau". La chaleur, soit en freinant la première, soit en accélérant la seconde, soit en agissant sur les deux réactions à la fois, aboutirait à la diminution du rendement en virus infectieux. Lorsqu'après un chauffage, les Drosophiles sont replacées à 20° C, l'importance relative des deux processus serait inversée jusqu'à ce qu'un nouvel équilibre s'installe.

Cette hypothèse permet de rendre compte des différents phénomènes relatifs à l'action de la température sur le virus extractible. Elle cadre également avec l'ensemble des données concernant le virus σ^- et ses relations avec son hôte.

Les résultats des chauffages appliqués aux Drosophiles sensibles au CO_2 sont comparés à ce que l'on observe dans le cas de quelques situations biologiques rappelant à certains points de vue le complexe σ^- -Drosophile.

-----ooOOoo-----

BIBLIOGRAPHIE.

1. ADAMS (M.H.) 1949. - The stability of bacterial viruses in solutions of salts. J. Gen. Phys., 32, 579-594.

2. BAWDEN (F.C.) et PIRIE (N.W.) 1937. - The isolation and some properties of liquid crystalline substances from solanaceous plants infected with three different strains of tobacco mosaic virus. Proc. Roy. Soc. (B), 123, 274-320.

3. BLACK (L.M.) 1948. - Transmission of clover-club leaf virus through the egg of its insect vector. Phytopathol., 38, 2.

4. BLACK (L.M.) 1950. - A plant virus that multiplies in its insect vector. Nature, 166, 852-853.

5. BLACK (L.M.) 1953a. - Viruses that reproduce in plants and insects. Annals of the N.Y. Acad. of Sci., 56, (3), 398-413.

6. BLACK (L.M.) 1953b. - Occasional transmission of some plant viruses through the eggs of their vector. Phytopathol., 43, 9-10.

7. BLACK (L.M.) 1959. - Biological cycles of plant viruses in insect vectors. The Viruses, 2, 157-186, Acad. Press, N.Y.

8. BLACK (L.M.) et BRAKKE (M.K.) 1952. - Multiplication of wound-tumor virus in an insect vector. Phytopathol., 42, 269-273.

9. BRUN (G.) Thèse de doctorat, Paris, en préparation.

10. BRUN (G.) et SIGOT (A.)/1955 - Étude de la sensibilité héréditaire au gaz carbonique chez la Drosophile. II. Installation du virus σ dans la lignée germinale à la suite d'une inoculation. Ann. de l'Inst. Pasteur, 88, 488-512.

11. COMMONER (B.) 1959. - The biochemical basis of Tobacco mosaic virus infectivity. Proc. Fourth Intern. Congress Biochemistry, VII. Biochemistry of viruses, 17-30, Pergamon Press.

12. COMMONER (B.) 1959. - The replication of Tobacco mosaic virus. A re-examination of theories. Nature, 184, 1998-2001.

13. DARNELL (J.A.) et EAGLE (Jr. et H.) 1960. - The biosynthesis of poliovirus in cell cultures. Adv. in Virus Research, 7, 1-25.

14. DORNER (R.W.) 1957. - Stability of Paramecin 34, at different temperatures and pH values. Science, 126, 1243-1244.

15. DULBECCO (R.) 1959. - Induction of tumors in vitro with viruses. Nat. Cancer Inst. Monograph, 4, 355-361.

16. DULBECCO (R.) 1960. - A consideration of virus-host relationship in virus-induced neoplasia et the cellular level. Cancer Research, 20, N°5, 751-761.

17. DULBECCO (R.) et VOGT (M.) 1954. - One-step growth curve of western equine encephalomyelitis virus on chicken embryo cells grown in vitro and analysis of virus yields from single cells. J. Exp. Med., 99, 183-199.

18. FOSTER (R.A.C.), JOHNSTON (F.H.) et MILLER (V.K.) 1949. - The influence of hydrostatic pressure and methane on the thermal inactivation of bacteriophage, J. Gen. Physiol., 33, 1-16.

19. FRAENKEL-CONRAT (H.) et SINGER (B.) 1959a. - Reconstitution of Tobacco mosaic virus : improved methods and the use of the mixed nucleic acids. Bioch. et Biophys. Acta, 33, 359-370.

20. FRAENKEL-CONRAT (H.) et SINGER (B.) 1959b. - The structural basis of the activity of Tobacco mosaic virus. Proc. Fourth Intern. Congress Biochemistry. VII. Biochemistry of Viruses, 9-16, Pergamon Press.

21. FRAENKEL-CONRAT (H.), SINGER (B.) et WILLIAMS (R.C.) 1957. - Infectivity of viral nucleic acid. Bioch. et Biophys. Acta, 25, 87-96.

22. FRAENKEL-CONRAT (H.), SINGER (B.) et VELDEE (S.) 1958. - The mechanism of plant-virus infection. Bioch. et Biophys. Acta, 29, 639-640.

23. FRAENKEL-CONRAT (H.) et WILLIAMS (R.C.) 1955. - Reconstitution of active Tobacco mosaic virus from its inactive protein and nucleic acid components. Proc. Nat. Acad. Sci., U.S., 41, 690-698.

24. FRASER (D.) et JOHNSON (F.H.) 1949. - The influence of buffer composition, pH and aggregation on the thermal denaturation of Tobacco mosaic virus. Arch. Biochem., 24, 338-349.

25. FUKUSHI (T.) 1933. - Transmission of the virus through the eggs of an insect vector. Proc. Imp. Acad. (Japon), 9, (8), 457-460.

26. FUKUSHI (T.) 1939. - Retention of virus by its insect vectors through several generations. Proc. Imp. Acad. (Japon), 15 (5), 142-145.

27. GIERER (A.) et SCHRAMM (G.) 1956. - Die Infektiosität der Nucleinsäure aus Tabakmosaicvirus. Z. Naturf., 11b, 138-142.

28. GOLDSTEIN (L.) 1951. - Thèse de doctorat, Paris.

29. ICONOMIDIS (J.) et L'HERITIER (Ph.) 1961. - Les relations du virus σ avec son hôte Drosophile. Etude de la perte spontanée de l'état stabilisé. Ann. de Génétique, 2, 53-58.

30. KASSANIS (B.) 1957. - Effect of changing temperature on plant-virus diseases. Adv. in Virus Res., 4, 221-241, Acad. Press, N.Y.

31. KRUEGER (A.P.) 1931. - J. Gen. Phys., 14, 493.

32. KUNKEL (L.O.) 1937. - Effect of heat on ability of Cicadula sexnotata (Fall) to transmit aster yellows. Am. J. of Botany, 24, (5), 316-327.

33. LAUFFER (M.A.) 1959. - Inactivation of viruses. Proc. Fourth Internat. Congress Biochemistry. VII. Biochemistry of viruses, 167-184, Pergamon Press.

34. LAUFFER (M.A.) et PRICE (W.C.) 1941. - Thermal denaturation of Tobacco mosaic virus. J. Biol. Chem., 133, 1-15.

35. LEA (D.E.) 1946. - The target theory. Actions of radiations on living cells. 69-100. The University Press, Cambridge.

36. L'HERITIER (Ph.) 1948. - Sensitivity to CO_2 in Drosophila. A review. Heredity, 2, (3) 325-348.

37. L'HERITIER (Ph.) 1957. - Le virus héréditaire de la Drosophile. Revue Pathol. Générale, 692, 1471-1485.

38. L'HERITIER (Ph.) 1958. - The hereditary virus of Drosophila. Adv. in Virus Research, 5, 195-245, Acad. Press, N.Y.

39. L'HERITIER (Ph.) 1962. - Les relations du virus héréditaire de la Drosophile avec son hôte. Ann. Inst. Pasteur, 102, 511-526.

40. L'HERITIER (Ph.) et HUGON de SCOEUX (F.) 1947. - Transmission, par greffe et injection, de la sensibilité au CO_2 chez la Drosophile. Bull. Biol. Fr. Belg., 81, 70-91.

41. L'HERITIER (Ph.) et SIGOT (A.) 1946. - Contribution à l'étude du phénomène de la sensibilité au CO_2 chez la Drosophile. Influence du chauffage aux différents stades du développement sur la manifestation de la sensibilité chez l'imago. Bull. Biol. Fr. Belg., 80, (2), 171-227.

42. L'HERITIER (Ph.) et TEISSIER (G.) 1945. - Transmission héréditaire de la sensibilité au CO_2 chez Drosophila Melanogaster. Pub. Lab. E.N.S., Paris, Biol., 1, 35-76.

43. LURIA (S.E.) 1953. - General Virology, 157-182. J. Wiley, N.Y.

44. LURIA (S.E.) 1959. - The reproduction of viruses : A comparative survey. The Viruses, 1, 549-568, Acad. Press, N.Y.

45. LWOFF (A.) 1959. - Factors influencing the evolution of viral diseases at the cellular level in the organism. Bacter. Rev.; 23, (3) 109-124.

46. LWOFF (A.), DULBECCO (R.), VOGT (M.) et LWOFF (M.) 1955.- Kinetics of the release of poliomyelitis virus from single cells. Virology, 1, 128-139.

47. LWOFF (A.) et LWOFF (M.) 1958. - L'inhibition du développement du virus poliomyélitique à 39° C et le problème de l'hyperthermie dans l'évolution des infections virales. C. R. Acad. Sci., 246, 190-192.

48. LWOFF (A.), TOURNIER (P.) et CARTEAUD (J.P.) 1959. - Influence de l'hyperthermie provoquée sur l'infection poliomyélitique de la souris. C. R. Acad. Sci., 248, 1876-1878.

49. MAGNI (G.E.) 1952. - Sex-ratio in Drosophila bifasciata. Rendiconti. Classe di Scienze, 85, 391-411.

50. MAGNI (G.E.) 1953. - "Sex-ratio". A non mendelian character in Drosophila bifasciata, Nature, 172, 81.

51. MAGNI (G.E.) 1956. - Il comportamento di un carattere citoplasmatico negli individui e in popolazioni. Supplemento a "La Ricerca Scientifica", anno 26, 1-19.

52. MAGNI (G.E.) 1959. - Il carattere sex-ratio in popolazioni naturali ed artificiali di Drosophila bifasciata, Rendiconti, Classe de Scienze (B), 93, 103-106.

53. MARAMOROSCH (K.) 1950. - Influence of temperature on incubation and transmission of the wound-tumor virus. Phytopathol., 40, 1071-1093.

54. MARAMOROSCH (K.) 1952. - Direct evidence for the multiplication of aster-yellows virus in its insect vector. Phytopathol., 42, 59-64.

55. MARAMOROSCH (K.) 1954. - Biological transmission of plant viruses by animal vectors. Transactions of the N.Y. Acad. of Sci., II (16), 189-195.

56. MARAMOROSCH (K.) 1955a. - Relative content of aster-yellows virus in inocula of vectors during serial transfers. Amer. J. of Botany, 42, (7), 676-67

57. MARAMOROSCH (K.) 1955b. - Mechanical transmission of curly top virus to its insect vector by needle inoculation. Virology, 1, (3), 286-300.

58. MARAMOROSCH (K.) 1955c. - Mechanical transmission of clover club-leaf virus to its insect vector. Bulletin of the torrey botanical club, 82, (5), 339-342.

59. MARKHAM (R.) 1959. - The biochemistry of plant viruses. The Viruses, 2, 82-125, Acad. Press, N.Y.

60. OHANESSIAN-GUILLEMAIN (A.) 1959. - Etude génétique du virus héréditaire de la Drosophile (σ^-). Mutations et recombinaison génétique. Ann. de Génétique, 1, (2), 59-68.

61. OHANESSIAN-GUILLEMAIN (A.) Thèse de doctorat, sous presse (Ann. de Génétique).

62. PEROL-VAUCHEZ (Y.), TOURNIER (P.) et LWOFF (M.) 1961. - Atténuation de la virulence du virus de l'encephalomyocardite de la souris par culture à basse température. Influence de l'hypo et de l'hyperthermie sur l'évolution de la maladie expérimentale. C. R. Acad. Sci., 253, 2164-2166.

63. PLUS (N.) 1950. - L'invasion d'un organisme par un virus héréditaire. Exp. Cell Res., 1, 217-233.

64. PLUS (N.) 1954. - Etude de la multiplication du virus de la sensibilité au gaz carbonique chez la Drosophile. Bull. Biol. Fr. Belg., 88, (3), 248-293.

65. POLLARD (E.C.) 1953. Thermal inactivation of viruses, 103-121. The physics of the viruses. Acad. Press Inc., N.Y.

66. POLLARD (E.C.) et REAUME (M.) 1951. - Thermal inactivation of bacterial viruses. Arch. Biochem. and Biophys., 32, 278-287.

67. PRICE (W.C.) 1940. - Thermal inactivation rates of four plant viruses. Arch. ges. Virusforsch. 1, 373-386.

68. SCHRAMM (G.) et ENGLER (R.) 1958. - The latent period after infection with Tobacco mosaic virus and virus nucleic acid. Nature, 181, 916-917.

69. SIEGEL (A.), GINOZA (W.) et WILDMAN (S.G.) 1957. - The early events of infection with Tobacco mosaic virus nucleic acid. Virology, 3, 554-559.

70. SIGOT (A.) 1953. - Contribution à l'étude de la sensibilité héréditaire au gaz carbonique chez la Drosophile. Influence de divers facteurs sur la transmission de la sensibilité par les mâles. Bull. Biol. Fr. Belg., 87, (4), 335-413.

71. SONNEBORN (T.M.) 1946. - Cytoplasmic factors in Paramecium. Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol., 11, 236-255, Princeton, New Jersey.

72. SONNEBORN (T.M.) 1947. - Developmental mechanisms in Paramecium. Growth Symp. 11, (4), 291-307, Princeton, New Jersey.

73. SONNEBORN (T.M.) 1959. - Kappa and related particles in Paramecium. Adv. in Virus Res., 6, 229-356. Acad. Press Inc., N.Y.

74. STANLEY (W.M.) et LORING (H.S.) 1938. - Properties of virus proteins. Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol., 6, 341-360, Princeton, New Jersey.

75. THOMAS (R.) 1960. - Viruses. The Cell, 4, 1-44, Acad. Press, N.Y.

76. THOMSON (R.L.) 1938. - The influence of temperature upon proliferation of infectious fibroma and infectious myxoma in vivo. J. Infectious Diseases, 62, 307-312.

77. WALKER (D.L.) et BORING (W.D.) 1958. - Factors influencing host-virus interactions. III. Further studies on the alteration of Coxsackie virus infection in adult mice by environmental temperature. J. Immunol. 80, 39-44.

-----ooOOoo-----

Deuxième THESE

Propositions données par la Faculté

LES FACTEURS GÉNÉTIQUES RESPONSABLES DE LA SYNTHÈSE DE L'HÉMOGLOBINE DANS L'ESPÈCE HUMAINE

Vu et approuvé:
Orsay, le 20 Juillet 1962
Le Doyen de la Faculté des Sciences,
Marc ZAMANSKY

Vu
et Permis d'imprimer:
Le Recteur de l'Académie de Paris,
Le Vice-Président du Conseil de l'Université de Paris,
Jean ROCHE

Deuxième THÈSE

Propositions données par la Faculté

LES FACTEURS GÉNÉTIQUES RESPONSABLES DE LA SYNTHÈSE DE L'HÉMOGLOBINE DANS L'ESPÈCE HUMAINE

Vu et approuvé:
Orsay, le 20 Juillet 1962
le Doyen de la Faculté des Sciences,
Marc ZAMANSKY

Vu
et Permis d'Imprimer:
le Recteur de l'Académie de Paris,
le Vice-Président du Conseil de l'Université de Paris,
Jean ROCHE